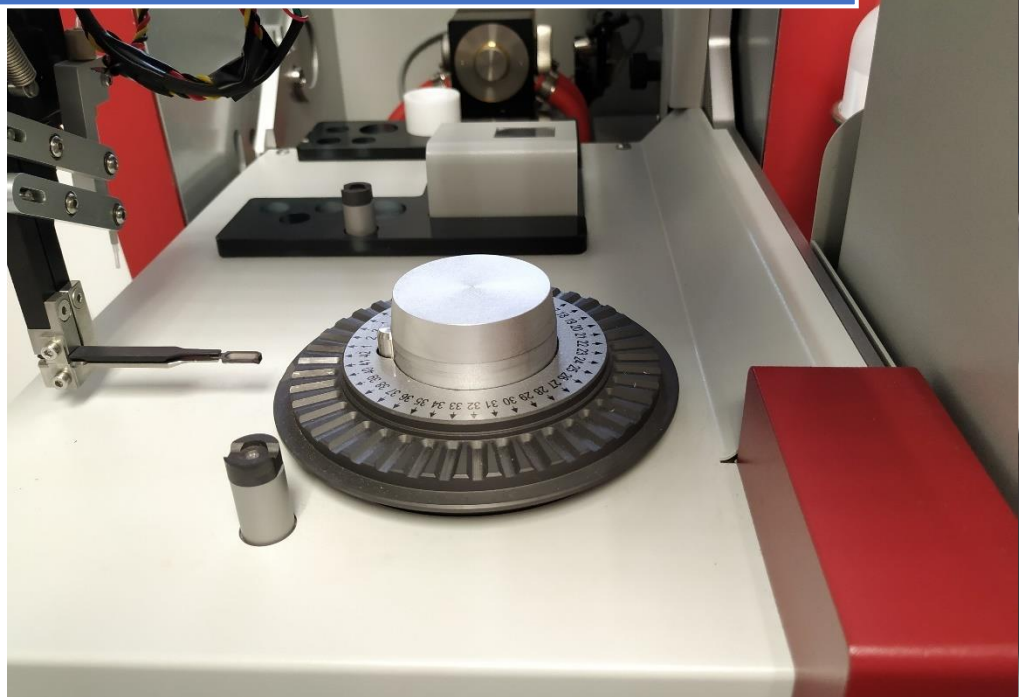


Estudio de las posibilidades de la absorción molecular de alta resolución empleando fuente continua en cámara de grafito para la medida de diferentes isótopos de Sr



Universidad
Zaragoza



Facultad de Ciencias
Universidad Zaragoza

Trabajo de Fin de Grado

Grado en Química

Curso: 2019/2020

Antonio Bazo Sánchez

Grupo: Métodos de Análisis Rápidos
con Técnicas Espectroscópicas

Departamento: Química Analítica

Centro: Universidad de Zaragoza

Director: Dr. Martín Resano Ezcaray

RESUMEN

Los elementos químicos presentan diferentes isótopos de abundancia natural conocida; no obstante, las abundancias se pueden ver modificadas por múltiples factores. La medida de dichas variaciones, el denominado análisis isotópico, permite obtener información analítica sobre sus causas. El análisis isotópico de estroncio resulta de especial interés, ya que el isótopo ^{87}Sr se genera por decaimiento radiactivo de ^{87}Rb , lo que le otorga aplicaciones en datación, análisis forense y estudios poblacionales y de alimentos; además, la relación isotópica $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ se puede ver alterada por fraccionamientos isotópicos dependientes de la masa que dan lugar a la separación de ambos entre dos fases de un sistema natural, presentando aplicaciones, por ejemplo, en arqueología y geoquímica.

El desarrollo de instrumentos de espectrometría de absorción atómica de alta resolución con fuente continua (HR-CS AAS) ha supuesto un gran avance para las técnicas espectroscópicas de absorción atómica, dadas sus múltiples ventajas que posibilitan nuevas metodologías o potencian las ya existentes. En este trabajo se van a estudiar las posibilidades de esta instrumentación para llevar a cabo análisis isotópicos de estroncio mediante la formación y análisis de las transiciones de la molécula de SrF . Para alcanzar este objetivo, se probarán diferentes fluorantes y transiciones para seleccionar los más adecuados, se optimizarán las variables instrumentales para maximizar la sensibilidad y, finalmente, se realizará un ensayo de análisis isotópico con materiales de referencia. Los resultados obtenidos son muy prometedores, por lo que se puede seguir investigando esta línea para perseguir aplicaciones concretas.

ABSTRACT

Chemical elements possess different isotopes of known natural abundance; however, these abundances can be modified due to multiple factors. The measurement of these abundance variations, the so-called isotope analysis, provides analytic information about their causes. Strontium isotope analysis is of particular interest given that the ^{87}Sr isotope is generated from the radioactive decay of ^{87}Rb , which provides applications within dating, forensic analysis and population as well as food studies; moreover, the isotopic ratio $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ can be altered due to mass dependent isotopic fractionation that lead to the separation of these isotopes in two phases of a natural system, providing applications, for example, in the fields of architecture and geochemistry.

The development of high-resolution continuous source atomic absorption spectroscopy (HR-CS AAS) instrumentation has provided great advances for the atomic absorption spectroscopic techniques, given its multiple advantages, which allow it to carry out new methodologies as well as strengthen those already existing. In this project, the study of this type of instrumentation to perform strontium isotope analysis through the formation and monitoring of the transitions of the SrF molecule will be carried out. To achieve this aim, different fluorinating agents and transitions will be tested to select the most suitable conditions, instrumental variables will be optimized for maximizing the sensitivity and, finally, a test of isotope analysis with reference materials will be performed. The results obtained are very promising and, therefore, further research along this line of investigation can be carried out for specific application purposes.

TABLA DE CONTENIDO

1- INTRODUCCIÓN	1
1.1- Espectroscopía de absorción atómica de alta resolución con fuente continua	1
1.2- Fundamentos del análisis isotópico	4
1.3- Desplazamiento isotópico.....	5
1.4- Aplicaciones del análisis isotópico de estroncio	7
1.5- Antecedentes.....	8
2- OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO DEL TRABAJO	9
3- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	10
3.1- Selección del fluorante y optimización de variables instrumentales.....	10
3.2- Selección de las transiciones para el análisis isotópico.....	15
3.3- Estudio de los parámetros analíticos de la transición seleccionada.....	16
3.4- Análisis isotópico.....	18
4- PARTE EXPERIMENTAL	21
4.1- Reactivos y disolventes.....	21
4.2- Instrumentación.....	21
5- CONCLUSIONES	22
6- BIBLIOGRAFÍA	23
 ANEXOS	 A1
Anexo 1- Preparación de disoluciones	A1
Anexo 2- Optimización del programa de temperaturas para NH₄F.HF.....	A3
Anexo 3- Estudio de la linealidad para los 6 picos no seleccionados.....	A4
Anexo 4- Optimización del tratamiento de datos para el análisis isotópico	A11

1- INTRODUCCIÓN

1.1- Espectroscopía de absorción atómica de alta resolución con fuente continua

La espectroscopía de absorción atómica de alta resolución con fuente continua (HR-CS AAS) nace como resultado de los desarrollos tecnológicos en el campo de la química analítica que tuvieron lugar en las últimas décadas del siglo veinte. Esta nueva instrumentación no sólo palía los principales inconvenientes de la espectroscopía de absorción atómica tradicional, sino que también posibilita nuevas aplicaciones.

La primera diferencia con los instrumentos precedentes se encuentra en la fuente de radiación, que pasa de consistir en lámparas de cátodo hueco, siendo necesaria una lámpara específica para cada analito, a lámparas de fuente continua. La carencia de equipos con fuente continua era debida a dos inconvenientes principales: por un lado, la necesidad de monocromadores de alta resolución que permitan trabajar a longitudes de onda discretas, minimizando el efecto de la luz parásita, y, por otro lado, su baja intensidad de emisión en el ultravioleta lejano, por debajo de 250 nm.¹

El desarrollo de los monocromadores dobles, que combinan dos elementos dispersantes, típicamente un prisma y una red *echelle*, dispuestos en serie,² permite alcanzar resoluciones superiores a $100.000 \lambda/\Delta\lambda$, logrando precisiones de 0,2 pm por pixel a 200 nm.¹ Estos monocromadores suelen llevar incorporada, entre los dos elementos dispersantes, una lámpara interna de neón que emite líneas estrechas en el rango de 580 – 720 nm, que son detectadas y empleadas para estabilizar las longitudes de onda, pudiendo corregir las fluctuaciones que se produzcan.³

La débil emisión que presentan las lámparas de fuente continua convencionales en el ultravioleta lejano se pudo solventar mediante el diseño de lámparas de fuente continua de arco corto de xenón. Estas lámparas pueden operar en modo *hot-spot*, a temperaturas alrededor de 10.000 K, alcanzando intensidades de emisión entre 10 y 1.000 veces superiores a las de las lámparas de cátodo hueco.⁴ Las emisiones de mayor intensidad permiten tomar medidas a cualquier longitud de onda, incluyendo el ultravioleta lejano, pudiéndose trabajar con líneas secundarias, lo que reduce la necesidad de dilución de muestras, que puede ser especialmente pernicioso si se persigue el análisis directo de muestras sólidas.

La segunda diferencia con los instrumentos de absorción atómica tradicionales reside en el sistema de detección. Los espectrómetros de alta resolución comerciales emplean dispositivos de acoplamiento de carga (CCD) como detectores, por lo que, a diferencia de los tradicionales, son multicanales; es decir, permiten el análisis simultáneo a varias longitudes de onda. Los CCD de los instrumentos comerciales constan de 588 píxeles, 200 de los cuales son empleados para medidas analíticas y los restantes llevan a cabo correcciones de la fluctuación de la lámpara, interferencias espectrales no estructuradas y cambios en la transmisión del atomizador, proporcionando una excelente estabilidad de la línea base.⁵

Las interferencias espectrales estructuradas no son, por lo general, problemáticas, ya que sólo afectarán a la señal cuando se solapen directamente con ella; además, el software del instrumento puede almacenar espectros de referencia de las interferencias

y llevar a cabo una corrección de fondo por mínimos cuadrados,⁴ descontando la contribución de la interferencia a la señal. Esta no es la única ventaja de los instrumentos de HR-CS AAS en comparación a los tradicionales, la mayor intensidad de emisión de la fuente de radiación permite alcanzar límites de detección alrededor de cinco veces menores.¹ Además, el empleo de CCD mejora la sensibilidad al poder evaluar, simultáneamente, más de una única longitud de onda, típicamente el píxel del máximo y los dos laterales adyacentes, tomando como señal la absorbancia combinada de todos ellos, lo que es especialmente notorio para líneas de absorción anchas.⁵ Por otro lado, si se usan únicamente píxeles laterales, se puede extender el rango lineal hasta 5 órdenes de magnitud⁵ a expensas de una menor sensibilidad, lo que resulta muy útil para la determinación de concentraciones de analito elevadas.

La siguiente figura muestra un esquema de los componentes de un instrumento de HR-CS AAS.

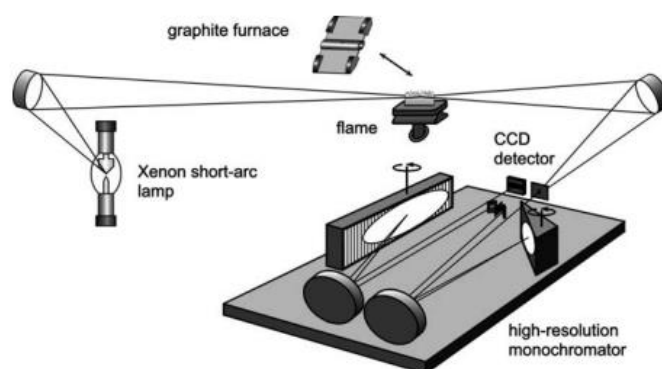


Figura 1.1 Esquema de un instrumento de HR-CS AAS.¹ Reproducido con permiso de Springer Nature.

Como se observa en la imagen, se pueden emplear tanto atomizadores de llama como electro térmicos. Los atomizadores electro térmicos son más utilizados que los de llama en equipos de alta resolución, ya que son más sensibles al confinar los átomos en un espacio reducido con un tiempo de residencia mucho mayor, lo que se traduce en menores límites de detección (LODs);⁴ además, minimizan todavía más las interferencias espectrales estructuradas, ya que, aparte de solaparse con la señal estudiada, la interferencia debe volatilizarse a una temperatura similar a la del analito.

Los atomizadores electro térmicos más empleados son hornos de grafito, que consisten, como se muestra en la figura 1.2, en un tubo de grafito cilíndrico, abierto en ambos extremos, con un orificio central, mediante el que se introducen la muestra y los reactivos de forma manual o automatizada, y dos contactos eléctricos con los que se hace pasar una corriente eléctrica que causa su calentamiento, de forma regulable y controlada, por efecto Joule.⁶ En el interior del tubo se suele colocar una plataforma de temperatura estabilizada, sobre la que se depositan la muestra y los reactivos, haciendo que el calentamiento sea más homogéneo de lo que resulta cuando hay contacto directo entre la muestra y el tubo, evitando la recondensación de los compuestos volatilizados. El horno se ubica, en el instrumento, dentro de una carcasa metálica por la que circula agua para su refrigeración y, por el exterior del tubo, se hace pasar una corriente de gas inerte, típicamente Argón, que impide la entrada de aire a su interior y, por lo tanto, su incineración. El proceso de medida se lleva a cabo de manera ordenada y controlada,

sometiendo al horno de grafito a un programa de temperaturas que consta de cuatro etapas fundamentales:⁷

1. Secado: para eliminar el disolvente de manera controlada, sin que se produzca la dispersión de la muestra y los reactivos, por lo que muchos equipos incorporan una cámara que permite comprobar, visualmente, si se produce correctamente. Durante esta etapa, se purgan, con una corriente de gas inerte que se hace pasar por el interior del tubo, los compuestos volatilizados. Se alcanzan temperaturas ligeramente superiores al punto de ebullición del disolvente.
2. Pirólisis o calcinación: en la que se deja al analito en la forma adecuada para su volatilización en la etapa de atomización y se trata la matriz para eliminar posibles interferencias. Los compuestos volátiles que se producen en esta etapa son, idealmente, los componentes de la matriz, por lo que también se emplea un gas de purga para su eliminación. Las temperaturas máximas no deben ser superiores al punto de fusión del analito para evitar su pérdida.
3. Atomización: donde se volatiliza el analito y se mide su absorbancia, por lo que la temperatura a la que tendrá lugar la etapa deberá ser superior a su punto de ebullición. Una diferencia importante con los instrumentos con atomizadores de llama es que, mientras los primeros miden únicamente el promedio de altura de absorbancia, los electrotrémicos presentan una dimensión extra, el tiempo, por lo que se suele tomar como señal analítica, aunque también se puede trabajar con alturas, la absorbancia integrada; es decir, la absorbancia total que tiene lugar durante todo el periodo de atomización (tiempo de lectura), obtenida mediante integración por trapecios del espectro de absorbancia frente a tiempo, por lo que tendrá unidades de tiempo. Los instrumentos de HR-CS AAS con atomización electrotrémica, a causa de la dimensión longitud de onda añadida por el CCD, darán lugar a espectros tridimensionales de valiosa información analítica. Cuando se trabaja con métodos de absorción molecular (HR-CS MAS), a esta etapa se la denomina vaporización.
4. Limpieza: para eliminar los restos de matriz y analito que queden en el horno.

En cada una de las etapas es necesario optimizar la temperatura, la rampa con la que se alcanza, el tiempo de estancia una vez terminada la rampa y el caudal del gas de purga. Además, se pueden programar etapas intermedias adicionales en función del problema analítico y es habitual llevar a cabo una etapa de adaptación al gas entre la pirólisis y la atomización para asegurar que todo el gas se purgue antes de empezar a volatilizar el analito.

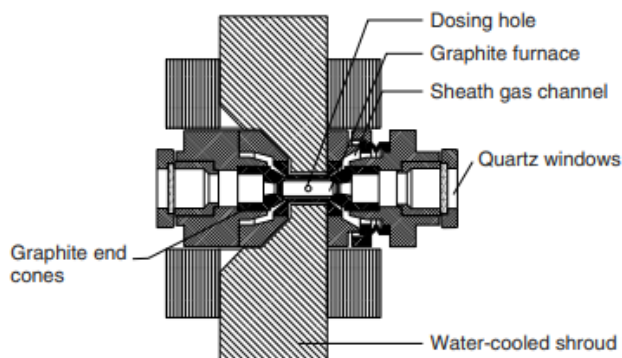


Figura 1.2 Representación de un horno de grafito.⁷ Reproducido con permiso de John Wiley and Sons.

Como se ha indicado al comienzo de la sección, los instrumentos de HR-CS AAS, además de los métodos realizables en los instrumentos de absorción atómica tradicionales, han posibilitado nuevas aplicaciones entre las que se destacan:

- Métodos de análisis directo:⁸ sin necesidad de tratamiento de muestra, gracias a la capacidad de la técnica de detectar, evitar y tratar con interferencias espectrales. Son especialmente importantes para muestras sólidas, ya que la ausencia de etapas de disolución permite obtener los resultados más rápidamente, reduce el riesgo de contaminación de la muestra, aumenta la sensibilidad, permite obtener información sobre la distribución de analito en la muestra, evita el uso de reactivos y disolventes contaminantes y, generalmente, requieren una menor cantidad de muestra. Esta metodología también se puede desarrollar con instrumentos con fuente de línea, pero resulta más sencilla de implementar con HR-CS AAS.
- Métodos de análisis multielemental:⁹ dado que el instrumento es multicanal, se pueden determinar, simultáneamente, varios analitos con señales en longitudes de onda suficientemente próximas. Gracias al control de temperatura que confiere la atomización electrotérmica, se puede aplicar esta metodología para elementos que presenten puntos de ebullición diferentes, aunque no absorban en longitudes de onda próximas. Para ello, se volatilizan los analitos por orden creciente de sus puntos de ebullición, pudiéndose medir por separado y cambiar la longitud de onda del monocromador entre una volatilización y la siguiente.
- Determinación de no metales:¹⁰ que no puede llevarse a cabo con instrumentos de absorción atómica tradicionales, a causa de su dificultad de atomización y de que sus señales más sensibles aparecen en el ultravioleta lejano, por debajo de 190 nm. La estrategia utilizada para su determinación se basa en generar moléculas que, pese a no ser fácilmente medibles con instrumentos de absorción molecular de baja resolución, son determinables con instrumentos de HR-CS AAS estudiando una transición entre dos niveles vibracionales o rotacionales concretos, gracias a la elevada resolución. La capacidad de estos instrumentos para poder desarrollar metodologías de espectroscopía de absorción molecular es, también, de suma importancia para otras aplicaciones como el análisis isotópico.
- Caracterización de nanopartículas:¹¹ pudiendo saber no sólo si un elemento está en forma de nanopartículas o de iones, sino también su tamaño. Esta metodología se puede llevar también a cabo con espectroscopía de absorción atómica en cámara de grafito (GFAAS), pero los equipos de alta resolución mejoran el potencial para el análisis directo, evitando las posibles transformaciones que puedan ocurrir durante el tratamiento de la muestra.
- Análisis isotópico: que se desarrollará en el siguiente apartado.

1.2- Fundamentos del análisis isotópico

Cada elemento presenta diferentes isótopos, que se suelen caracterizar mediante su abundancia relativa, calculable mediante el cociente de la cantidad, en número de átomos o de moles, de uno de los isótopos y total del elemento. Las abundancias naturales son, a priori, conocidas, pero se pueden ver modificadas por los siguientes factores:¹²

- a) Efectos antropogénicos: como la producción de un isótopo específico para llevar a cabo medidas por dilución isotópica o para obtener uranio enriquecido en centrales nucleares.
- b) Núcleos radiactivos: que se convierten en otros núcleos a través de reacciones de decaimiento radiactivo, emitiendo partículas α , β^+ o β^- . Dichos decaimientos son, por lo general, reacciones de primer orden, por lo que presentan un tiempo de vida media constante que puede ser empleado para la datación de muestras. Otra posible aplicación de este efecto es el estudio de material extraterrestre, como meteoritos, que pueden presentar núcleos de tiempos de vida media cortos, ya extintos en la Tierra dada su antigüedad.
- c) Interacciones con rayos cósmicos: que reaccionan, principalmente, en la atmósfera, y pueden formar núcleos de ^{14}C a partir de ^{14}N , pudiendo entrar en la cadena alimenticia, modificando la composición isotópica de carbono en los organismos vivos.
- d) Fraccionamientos isotópicos dependientes de la masa: causados por ligeras diferencias en la reactividad de los isótopos, consecuencia de la diferencia entre sus masas, lo que afecta a su participación en procesos físicos y químicos, pudiéndose modificar sus abundancias en la muestra. Este efecto es más notorio en elementos ligeros, donde la diferencia de masa entre isótopos es más significativa, y puede ser empleado para estudiar los procesos que haya sufrido una muestra, así como las condiciones en las que se encontraba.
- e) Fraccionamientos isotópicos independientes de la masa: donde la diferencia en la reactividad entre isótopos es causa de la diferente interacción entre los núcleos isotópicos y su nube electrónica, afectando a su capacidad de enlace. Este efecto es mucho menos frecuente y de mucha menor magnitud que los anteriores, por lo que ha sido estudiado en menor medida.

El análisis isotópico estudia las modificaciones en las abundancias naturales de los isótopos que presente una determinada muestra. Para llevar a cabo un estudio isotópico, en lugar de trabajar con abundancias, se puede emplear el cociente entre las cantidades de dos isótopos, la denominada relación isotópica, ya que evita la necesidad de medir la totalidad del elemento. Además de las aplicaciones ya mencionadas, existen artículos que emplean esta metodología en análisis forense¹³ o para obtener información sobre la procedencia de alimentos.¹⁴

Las técnicas más empleadas para el análisis isotópicos son aquellas que, como la cromatografía de gases, la cromatografía líquida de altas prestaciones o la espectroscopía de plasma de acoplamiento inductivo, puedan trabajar en combinación con espectrómetros de masas,¹⁵ dada su alta sensibilidad y selectividad y a que es una técnica desarrollada para el análisis de isótopos. Sin embargo, requieren de un estricto tratamiento de muestra para evitar efectos matriz, por lo que el desarrollo de métodos más rápidos, como la HR-CS AAS/MAS, está en boga.

1.3- Desplazamiento isotópico

El estudio de las relaciones isotópicas se puede llevar a cabo mediante HR-CS AAS, ya que los isótopos de un mismo elemento presentan ligeras variaciones en sus niveles energéticos, lo que supone una diferencia de pocos picómetros entre señales de transiciones análogas. Esta diferencia es el denominado desplazamiento isotópico y

permite medir cada isótopo por separado, pudiéndose obtener la relación isotópica que, como se comenta en el apartado 3.4, debería coincidir con la relación de absorbancias de ambas señales, salvo que se produzcan efectos que la alteren. Sin embargo, el bajo valor de este desplazamiento, así como el ensanchamiento de las señales causado por efecto Doppler, choques intermoleculares y la anchura natural de las señales,¹¹ hacen que ambos picos tiendan a solaparse, dificultando su medida de forma individual.

A pesar de que existen métodos para llevar a cabo estudios isotópicos en átomos ligeros como el boro,¹⁶ donde la diferencia de masa entre isótopos es más significativa, las moléculas presentan desplazamientos mayores y muchas más transiciones. El mayor desplazamiento observado en las moléculas es debido a que, mientras que los niveles electrónicos están, principalmente, determinados por las fuerzas coulombianas, los niveles vibracionales y rotacionales se ven mucho más afectados por las diferencias de masa entre moléculas isotópologas.¹⁷ Las transiciones moleculares que impliquen cambios entre niveles rotacionales o vibracionales presentarán, por lo tanto, valores de desplazamiento superiores a las atómicas, dado que son puramente electrónicas. El desplazamiento isotópico teórico para una molécula puede extraerse de la ecuación propuesta por Herzberg¹⁸ y completada por Nakadi *et al.*,¹⁵ expuesta a continuación:

$$\Delta\nu = (1 - \rho) \left[\omega'_e \left(v' + \frac{1}{2} \right) - \omega''_e \left(v'' + \frac{1}{2} \right) \right] - (1 - \rho^2) \left[\omega'_e \chi'_e \left(v' + \frac{1}{2} \right)^2 - \omega''_e \chi''_e \left(v'' + \frac{1}{2} \right)^2 \right] + (1 - \rho^3) \left[\omega'_e y'_e \left(v' + \frac{1}{2} \right)^3 - \omega''_e y''_e \left(v'' + \frac{1}{2} \right)^3 \right]$$

Ecuación 1.1 Cálculo teórico del desplazamiento isotópico.

Donde $\Delta\nu$ es el desplazamiento isotópico en cm^{-1} , v es el número cuántico vibracional, ω_e es la frecuencia armónica, χ'_e y y'_e son la primera y segunda constante de anarmonicidad y ρ equivale a $(\mu/\mu^i)^{1/2}$, siendo μ y μ^i las masas reducidas de la molécula con el isótopo más ligero y más pesado, respectivamente. Los apóstrofes distinguen los dos niveles electrónicos implicados: un único apóstrofe para el nivel superior y dos para el inferior. El número de términos en la ecuación es, realmente, infinito, pero, de acuerdo con Nakadi *et al.*,¹⁵ sólo tres son suficientes para que exista una buena concordancia con los valores experimentales.

De la ecuación se deduce que las transiciones que impliquen mayor variación entre los números cuánticos vibracionales de ambos niveles presentarán desplazamientos mayores. Sin embargo, estas transiciones no siempre son las más sensibles, especialmente si no parten del nivel fundamente ($v'' = 0$), que es el más poblado. Esta dicotomía conlleva que, para estudiar las relaciones isotópicas, sea necesario encontrar transiciones con desplazamientos suficientemente grandes para poder estudiar la señal de cada isótopo por separado y que, a su vez, sean lo suficientemente sensibles para cuantificarlas. En el caso de que no se cumpla una de estas condiciones, la relación de absorbancias se podrá ver alterada, dificultando el análisis isotópico.

Además, se observa que la ecuación proporciona resultados en unidades de número de onda, pero, en la práctica, los desplazamientos isotópicos se suelen calcular como diferencia de longitudes de onda ($\Delta\lambda$), ya que son valores directamente extraíbles de los espectros. Por ende, para comparar valores experimentales y teóricos, se convierten, como se detalla en la ecuación 1.2, los resultados de la ecuación 1.1.

$$\Delta\lambda = \left(\frac{1 \cdot 10^7}{\Delta\nu + \nu(A)} - \lambda(A) \right) \cdot 1000$$

Ecuación 1.2 *Conversión de las unidades del desplazamiento isotópico.*

Donde $\Delta\lambda$ y $\Delta\nu$ son el desplazamiento isotópico en pm y cm^{-1} y $\nu(A)$ y $\lambda(A)$ son, para una de las señales implicadas, su número y longitud de onda en cm^{-1} y pm.

1.4- Aplicaciones del análisis isotópico de estroncio

El estroncio presenta cuatro isótopos estables en la naturaleza: ^{84}Sr , ^{86}Sr , ^{87}Sr y ^{88}Sr , cuyas abundancias se muestran en la tabla 1.1.

Tabla 1.1 *Abundancia natural de los isótopos de Sr.*¹⁹

Isótopo	Abundancia (%)	Intervalo de abundancias observado (%)
^{84}Sr	0,56	[0,55, 0,58]
^{86}Sr	9,86	[9,75, 9,99]
^{87}Sr	7,00	[6,94, 7,14]
^{88}Sr	82,58	[82,29, 82,75]

El isótopo ^{87}Sr es radiogénico; es decir, se genera por decaimiento de núcleos radiactivos, en este caso de ^{87}Rb por emisión de partículas β^- .¹⁹ Por lo tanto, se observarán modificaciones en las abundancias de los isótopos de estroncio de muestras que contengan rubidio. La magnitud de las alteraciones dependerá tanto de la cantidad de ^{87}Rb presente en la muestra, como de su antigüedad.

El tiempo de vida media del isótopo ^{87}Rb es de 48.800 millones de años,¹² un valor muy elevado, por lo que el estudio de la relación isotópica, típicamente $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, se puede emplear para aplicaciones geocronológicas en muestras antiguas. El método más empleado es el de datación por isócronas, que se basa en la siguiente ecuación:

$$\left(\frac{^{87}\text{Sr}}{^{86}\text{Sr}} \right)_t = \frac{^{87}\text{Rb}}{^{86}\text{Sr}} (e^{\lambda t} - 1) + \left(\frac{^{87}\text{Sr}}{^{86}\text{Sr}} \right)_0$$

Ecuación 1.3 *Ecuación para la datación mediante isócronas.*²⁰

Donde t es el tiempo desde que el mineral entró en equilibrio; es decir, el momento en el que la difusión de sus isótopos con el exterior se detuvo y el sistema se cerró, lo que ocurre, generalmente, al cristalizar. Los cocientes $(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})_0$ y $(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})_t$ son las relaciones isotópicas en el momento en el que se cerró el sistema y en el de la medida, respectivamente. Finalmente, λ es la constante de decaimiento que, al ser una reacción de primer orden, se puede obtener mediante el cociente del logaritmo neperiano de dos y el tiempo de vida media del núcleo radioactivo, su valor para el caso del ^{87}Rb es de $1,42 \cdot 10^{-11} \text{ años}^{-1}$.

La ecuación expresada corresponde a una recta en un diagrama de $(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})_t$ frente a $^{87}\text{Rb}/^{86}\text{Sr}$, por lo que, si se dispone de dos o más o muestras minerales formadas a la vez y en equilibrio isotópico; es decir, con la misma relación $(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})_0$, pero con distintas relaciones $^{87}\text{Rb}/^{86}\text{Sr}$, se podrá representar una recta de pendiente $(e^{\lambda t} - 1)$, de la que extraer el valor de t . Este equilibrio se suele alcanzar en minerales de diferente composición que hayan crecido en el mismo fundido;²⁰ en el caso de que no tenga lugar,

los puntos de la recta estarán muy dispersos y darán lugar a una recta denominada errorcrona, cuyos resultados de datación son poco precisos. La siguiente imagen muestra, de forma comparativa, una errorcrona y una isócrona para la datación mediante análisis isotópico de estroncio.

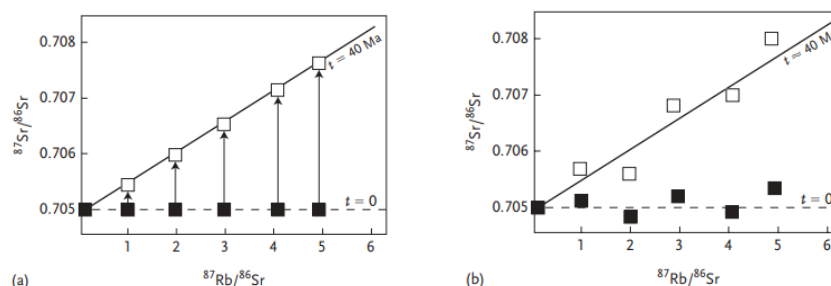


Figura 1.3 Representación de una isócrona (a) y una errorcrona (b).²⁰ Reproducido con permiso de John Wiley and Sons.

Como se muestra en la siguiente figura, la concentración de Rb en muestras minerales varía en función de su procedencia, por lo que el análisis isotópico de estroncio se ha empleado para dilucidar la procedencia de alimentos cultivados,¹² cuya abundancia de ^{87}Sr se verá alterada por la composición mineralógica del suelo, así como de muestras antropogénicas y animales, muy importantes en el contexto de la química forense¹² y en estudios migratorios.²¹ Además, las modificaciones en la relación isotópica de $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ son muy empleadas para el estudio de factores antropogénicos, como los vertidos de fertilizantes y residuos industriales a sistemas acuáticos.²²⁻²⁹

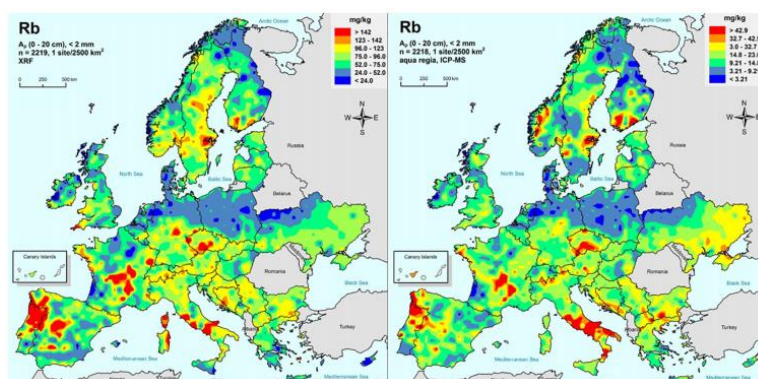


Figura 1.4 Mapa de la distribución de Rb en muestras geoquímicas europeas. Izquierda: análisis por XRF, derecha: análisis por extracción en agua regia con determinación mediante ICP-MS.³⁰ Reproducido con permiso de Elsevier.

1.5- Antecedentes

A pesar de las múltiples aplicaciones del análisis isotópico, el desarrollo de métodos empleando instrumentación de HR-CS AAS con formación de moléculas es, todavía, escaso. Hasta la fecha, sólo se han publicado cuatro artículos en los que se use esta metodología,^{15,31-33} ninguna de ellas centrada en el análisis isotópico de estroncio; sin embargo, este análisis sí que se ha llevado a cabo mediante ICP-MS³⁴ y espectrometría de ablación láser molecular isotópica (LAMIS),³⁵ entre otras técnicas.

En este trabajo se siguió el método desarrollado por Nakadi *et al.*¹⁵ para el análisis isotópico de cloro, junto con las ideas expuestas para la fluoración de metales por Abad *et al.*³² y Aramendía *et al.*³⁶ para realizar el análisis isotópico de Sr a partir de SrF .

2- OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO DEL TRABAJO

En el apartado 1.4 se han comentado las aplicaciones para el análisis isotópico de estroncio, todas ellas centradas en el ^{87}Sr , que resulta el isótopo de mayor interés analítico por su carácter radiogénico. Sin embargo, dada la disponibilidad de patrones en el laboratorio, este trabajo se va a centrar en los isótopos ^{88}Sr y ^{86}Sr , para los que se han publicado algunas aplicaciones, por ejemplo, en arqueología³⁷ y geoquímica.³⁸ Como los dos isótopos son estables y no son radiogénicos, su relación isotópica únicamente se verá modificada por procesos de fraccionamiento isotópico dependientes de la masa, que conllevan la separación de ambos isótopos entre dos fases coexistentes de un sistema natural.³⁹

El objetivo principal de este trabajo es, por lo tanto, estudiar la posibilidad de desarrollar un análisis isotópico de estroncio, mediante el desplazamiento isotópico de una transición de absorción molecular del SrF , utilizando un instrumento de HR-CS AAS. Para perseguir este objetivo, se plantea la realización de las tareas que se exponen a continuación:

1. Selección del fluorante y optimización de las variables instrumentales.

Con esta tarea se pretende generar, de la forma más cuantitativa posible, la molécula de SrF en el horno de grafito y maximizar la señal obtenida. La elección de esta molécula se debe a su elevada fuerza de enlace, cuya energía es de 538,48 kJ/mol,⁴⁰ lo que permite su estabilidad a las altas temperaturas que alcanza el horno, al ser superior a 500 kJ/mol;⁴ además, el flúor es monoisotópico, por lo que el espectro molecular presentará menos líneas y será más sencillo. El desarrollo de la tarea consistirá en probar diferentes fluorantes y optimizar las variables hasta encontrar las condiciones con las que se alcancen mejores resultados.

2. Selección de las transiciones para el análisis isotópico.

Una vez diseñado el método para la formación de la molécula de SrF , se deben buscar transiciones que presenten desplazamientos isotópicos elevados y sean lo suficientemente sensibles para su cuantificación. Para alcanzar este objetivo, se calcularán, mediante las ecuaciones 1.1 y 1.2, los valores del desplazamiento isotópico teórico de diferentes transiciones extraídas de fuentes bibliográficas y se obtendrá el espectro de aquellas que presenten desplazamientos amplios para escoger la más sensible.

3. Estudio de los parámetros analíticos de la transición seleccionada.

Para esta tarea, se prepararán disoluciones de diferente concentración y se medirán por quintuplicado para construir la recta de calibrado de la transición seleccionada y evaluar sus parámetros analíticos (sensibilidad, rango lineal, límite de detección y límite de cuantificación).

4. Análisis isotópico.

Obtención, mediante el empleo de materiales de referencia de estroncio con diferentes abundancias isotópicas, del valor del desplazamiento isotópico experimental para la transición seleccionada y estudio de la evolución de la relación de las señales con la relación isotópica.

3- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1- Selección del fluorante y optimización de variables instrumentales

Siguiendo el trabajo de Ozbek *et al.*,⁴¹ que diseña un método para la determinación de flúor con un instrumento de HR-CS AAS, mediante la formación de SrF con un exceso de estroncio, se optimizaron las condiciones para obtener la máxima absorbancia posible a 651,1870 nm, señal más intensa de la molécula. Sin embargo, dado que el analito de este trabajo es el estroncio, en este caso será el fluorante el reactivo en exceso. Para que los resultados sean comparables con los de la publicación de referencia, la disolución de reactivo limitante se preparó de la misma concentración que la de la publicación, 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, y se introdujo el mismo volumen en el horno, 10 μL . La preparación de todas las disoluciones del trabajo se detalla en el anexo 1. Se llevó a cabo un primer ensayo utilizando 10 μL de una disolución 5 % en masa de bifluoruro de amonio ($\text{NH}_4\text{F.HF}$), fluorante empleado por Aramendía *et al.*³⁶ en la formación de AIF para la determinación de Al, pero se obtuvo una señal muy inferior a la de Ozbek *et al.*⁴¹ empleando el mismo programa de temperaturas, lo que puede ser debido a que la formación de la molécula de SrF no sea cuantitativa. Para corroborar esta hipótesis, se llevó a cabo un ensayo opuesto, empleando Sr en exceso, 10 μL de una disolución de 1000 mg L^{-1} , y $\text{NH}_4\text{F.HF}$ como reactivo limitante, 10 μL de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, y se obtuvieron valores de absorbancia mucho mayores, como se puede observar en la siguiente figura.

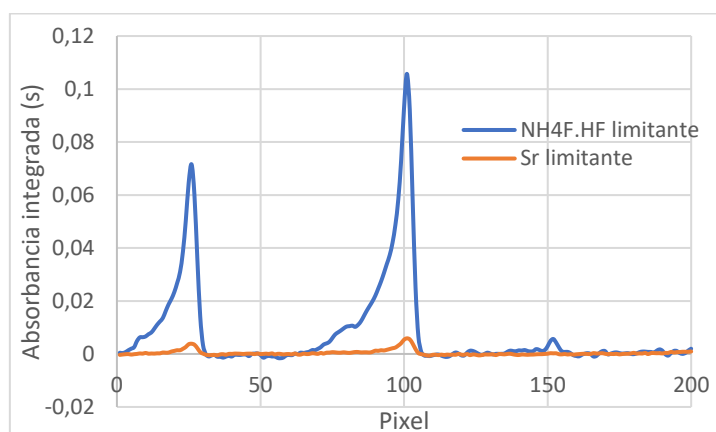


Figura 3.1 Variación del espectro de absorción del SrF en función del reactivo limitante. El píxel 101 está centrado a 651,187 nm. La absorbancia integrada corresponde a los 5,8 segundos que dura la vaporización (tiempo de lectura).

La gran diferencia que muestran ambos espectros en sus valores de absorbancia ratifica la hipótesis de que la formación de la molécula de SrF no sea cuantitativa bajo las condiciones experimentales, probablemente por la dificultad que presenta el flúor para estabilizarse y formar la molécula. La señal obtenida con $\text{NH}_4\text{F.HF}$ como reactivo limitante es, no obstante, menor que la conseguida por Ozbek *et al.*,⁴¹ cuyo espectro se muestra en la figura 3.2. La razón de esta diferencia se puede observar en el espectro tridimensional del ensayo opuesto, representado en la figura 3.3, donde se puede apreciar que los picos presentan una cola muy extensa; es decir, la formación de la molécula de SrF se extiende en un intervalo de tiempo tan amplio que el instrumento deja de medir cuando todavía se está formando. Este problema se traduce en una pérdida de señal y la aparición de efectos memoria en el horno de grafito si no se aumenta el tiempo de lectura.

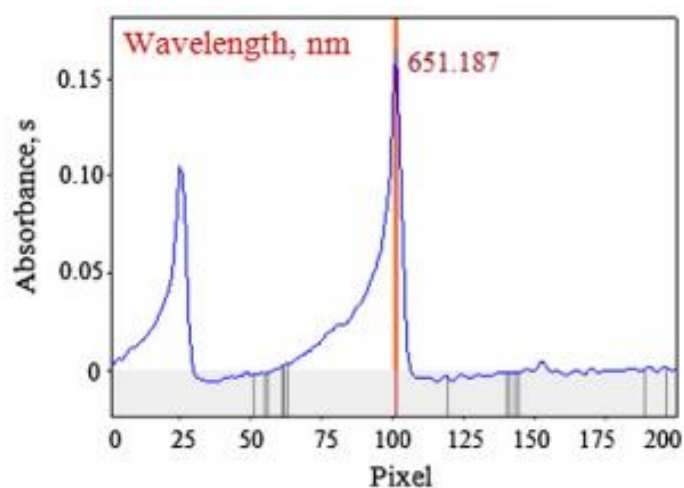


Figura 3.2 Espectro de absorción del SrF obtenido por Ozbek *et al.*⁴¹ La absorbancia integrada corresponde a un tiempo de lectura de 5 segundos, la señal se obtiene sin colas. Reproducido con permiso de Elsevier.

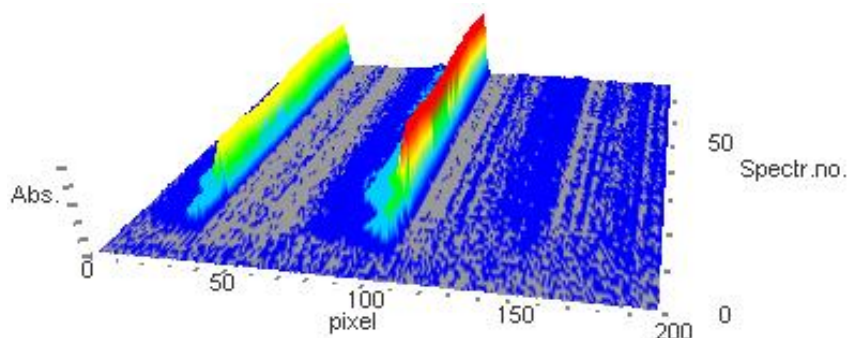


Figura 3.3 Espectro 3D del SrF formado con $\text{NH}_4\text{F} \cdot \text{HF}$ como reactivo limitante.

Con el objetivo de paliar la lenta generación de la molécula de SrF, se llevó a cabo un recubrimiento de la plataforma estabilizadora de temperatura con circonio que, conforme con la publicación de Abad *et al.*,⁴² puede estabilizar los fluoruros y actuar como catalizador de la reacción de fluoración. Para el recubrimiento se aplicó el programa de temperatura mostrado en la tabla 3.1 sobre 40 μL de una disolución de 10 mg L^{-1} de Zr y 50 % en volumen de etanol, siguiendo el procedimiento de Abad *et al.*⁴²

Tabla 3.1 Programa de temperatura para el recubrimiento con Zr ⁴²

Paso	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa ($^{\circ}\text{C/s}$)	Tiempo de estancia (s)
Secado	90	10	20
Secado	130	2	10
Pirólisis	900	100	20
Atomización	2300	2000	6
Limpieza	2600	1000	3

Como se puede apreciar en la siguiente imagen, el empleo del recubrimiento reduce la cola del pico, por lo que se puede concluir que la reacción se acelera y/o la liberación de la molécula de SrF se favorece, solventando el problema del efecto memoria.

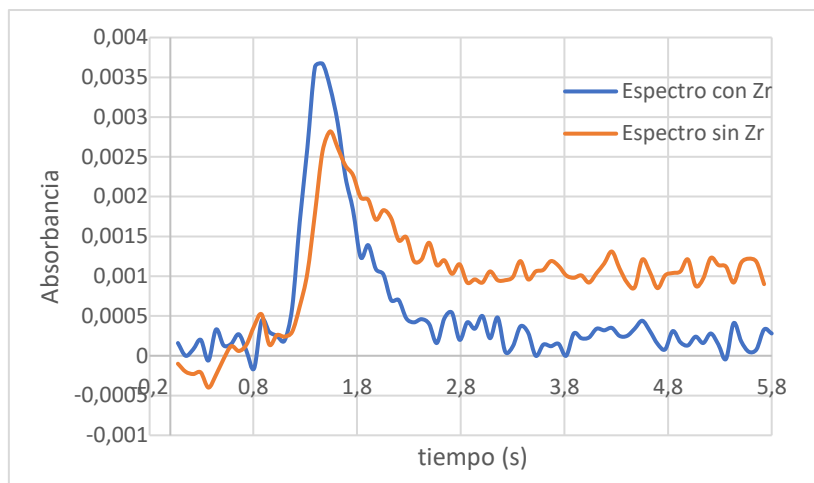


Figura 3.4 Evolución de la absorbancia del SrF en función del tiempo, con y sin recubrimiento de Zr.

La señal obtenida es, sin embargo, demasiado baja para poder aplicar el método a una longitud de onda que presente desplazamiento isotópico, ya que, como se explicó en el apartado 1.3, son, generalmente, las menos sensibles. Por ello, se llevó a cabo una optimización de las temperaturas de vaporización y pirólisis, variando una de las dos temperaturas y dejando la otra constante. Los resultados obtenidos en la optimización se muestran en la siguiente gráfica y los valores a partir de los cuales se ha construido están recogidos en el anexo 2.

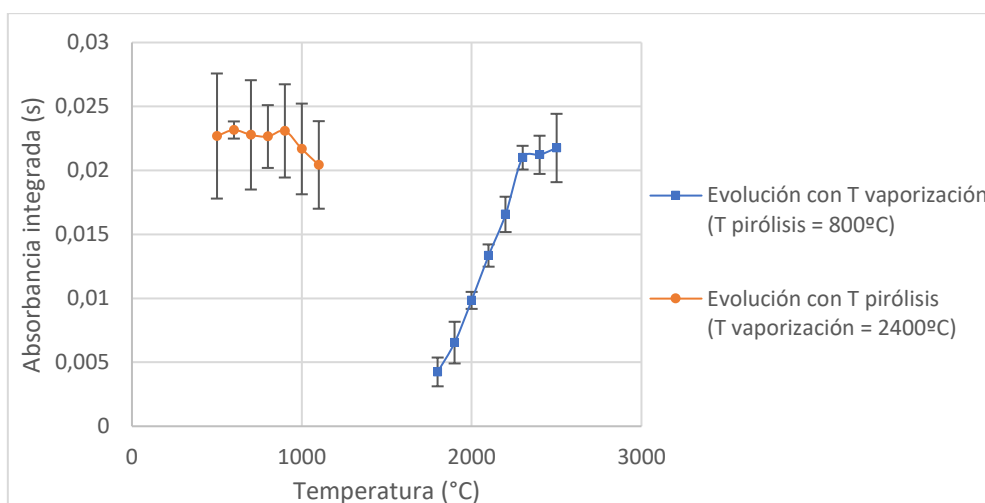


Figura 3.5 Evolución de la absorbancia integrada con las temperaturas de vaporización y pirólisis. La abs. integrada corresponde a los 5,8 s de vaporización.

A partir de los datos presentados se puede concluir que el valor de la temperatura de vaporización para lograr una absorbancia máxima debe ser superior a 2300°C, siendo 2400°C la escogida para futuras medidas. En cuanto a la temperatura de pirólisis, parece haber una disminución de la señal por encima de 900°C, lo que podría significar que, por encima de esta temperatura, se empiezan a formar moléculas de SrF que son purgadas fuera del horno y, por lo tanto, no llegan a ser cuantificadas. Sin embargo, la incertidumbre de las medidas es demasiado grande como para poder asegurar la afirmación anterior, por lo que se seguirá trabajando con la temperatura de pirólisis empleada por Ozbek *et al.*,⁴¹ 800°C.

Tabla 3.2 Programa de temperaturas para la formación de SrF propuesto por Ozbek et al.⁴¹ Entre paréntesis aparecen los valores modificados tras la optimización.

Paso	Temperatura (°C)	Rampa (°C/s)	Tiempo de estancia (s)
Secado	80	6	20
Secado	90	3	30
Secado	120	5	10
Pirólisis	800	300	10
Adaptación al gas	800	0	5
Atomización	2200 (2400)	2000	5
Limpieza	2500	500	4

La mejora de la sensibilidad tras la optimización siguió siendo muy baja, por lo que se ensayaron nuevas técnicas de fluoración que pudieran ser más cuantitativas. En primera instancia, se probaron 10 µL de disolución 5 % en masa de fluoruro de sodio (NaF) como fluorante, reactivo utilizado por Abad et al.⁴² para generar CaF, pero no se obtuvo señal. Según Ozbek et al.⁴¹ la reacción de formación de SrF tiene lugar mediante la recombinación de los átomos de Sr y F en fase gas, por lo que se añadió metilfluoruro en Ar como gas auxiliar para la fluoración con el programa de temperaturas optimizado para el NH₄F.HF, pero aplicando el gas auxiliar en las etapas de adaptación al gas y de atomización. Las señales obtenidas con este programa resultaron mucho menos sensibles que las alcanzadas con bifluoruro, posiblemente porque el instrumento sólo permite trabajar con flujos de gas auxiliar elevados, 0,5 L min⁻¹, por lo que el tiempo de residencia de la molécula en la vaporización y, consecuentemente, la sensibilidad disminuirán. Para paliar el efecto purgante del gas auxiliar, se diseñó un nuevo programa de temperaturas, inyectando el flujo de gas auxiliar en el paso de adaptación al gas y deteniéndolo en la atomización para confinar el máximo gas fluorante posible antes de formar la molécula. Sin embargo, el software del equipo está diseñado para que los flujos de gases del paso de adaptación al gas sean idénticos a los de la atomización; por lo tanto, se añadió una etapa de limpieza adicional en la que se aplicase el programa de temperaturas para la formación de la molécula y se eliminó el de la atomización, donde únicamente se introducirá gas de purga durante un tiempo de estancia de un segundo, tal y como se muestra en la tabla 3.3. De esta forma, la etapa de vaporización tiene lugar, realmente, en una etapa que el instrumento reconoce como de limpieza y la etapa que identifica como atomización (vaporización) será una prolongación de paso de adaptación al gas. El tiempo de lectura tuvo de ser 5,8 segundos, tiempo que dura el programa de temperatura de vaporización, a 6,8, ya que el instrumento comienza la lectura desde el comienzo de la atomización.

Tabla 3.3 Programa de temperaturas modificado para fluorantes en fase gas.

Paso	Temperatura (°C)	Rampa (°C/s)	Tiempo de estancia (s)	Flujo gas (L/min)	
				Purga	Auxiliar
Secado	80	6	20	2	Stop
Secado	90	3	30	2	Stop
Secado	120	5	10	2	Stop
Pirólisis	800	300	10	2	Stop
Adaptación al gas	800	0	5	Stop	0,5
Atomización	800	0	1	Stop	0,5
Limpieza	2400	2000	5	Stop	Stop
Limpieza	2500	500	4	2	Stop

Los valores de absorbancia alcanzados con el programa modificado fueron ligeramente inferiores a los logrados con el fluorante en fase líquida, pero muy superiores a los obtenidos con el programa de Ozbek *et al.*⁴¹ optimizado. Finalmente, se cambió el gas de purga, Argón, por una mezcla Ar/H₂ que, al poseer un mayor carácter reductor, facilita la formación de átomos en fase gas y, por lo tanto, de la molécula de SrF, obteniéndose señales mayores a las del fluorante líquido, como se puede observar en la figura 3.6.

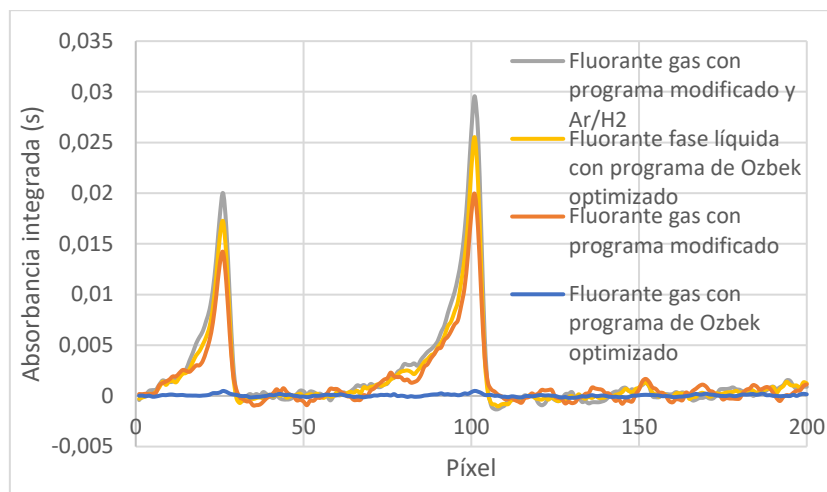


Figura 3.6 Comparación del espectro obtenido con diferentes métodos de fluoración. La abs. int. corresponde a 5,8 y 6,8 segundos (tiempo de lectura) desde el comienzo de la vaporización para los fluorantes en fase líquida y gas, respectivamente.

Las ventajas que confiere el empleo de fluorantes gaseosos son su menor necesidad de preparación y que permiten, para un mismo programa de temperatura, inyectar un mayor volumen de muestra sin tener que recurrir a etapas de secado más extensas, obteniendo señales mucho más sensibles, como se muestra en la figura 3.7, ya que la señal es proporcional a la masa de analito introducida. Esto significa, a su vez, que, para un mismo volumen de muestra, se puede trabajar con etapas de secado más cortas, mejorando la rapidez del método. Por todo esto, es el método escogido para desarrollar el análisis isotópico.

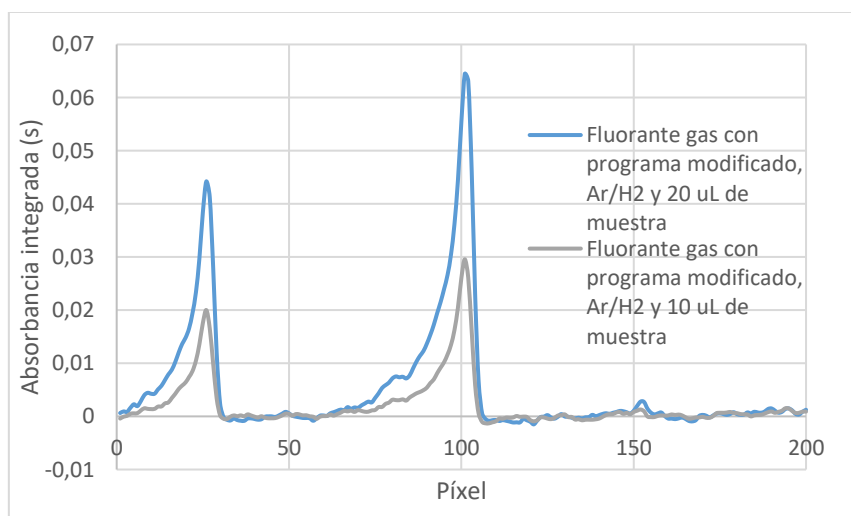


Figura 3.7 Comparación del espectro obtenido con diferentes volúmenes de muestra. La abs. int. corresponde a 6,8 s desde el inicio de la vaporización.

3.2- Selección de las transiciones para el análisis isotópico

De acuerdo con la ecuación del desplazamiento isotópico expresada en el apartado 1.3, las transiciones que impliquen un mayor cambio de números cuánticos vibracionales presentarán un mayor desplazamiento isotópico, pero, a su vez, suelen ser menos sensibles. Es, por lo tanto, conveniente seleccionar una transición que presente un equilibrio entre desplazamiento isotópico y sensibilidad, por lo que se probaron, para 40 μL de una disolución de estroncio natural de 1 mg L^{-1} , las longitudes de onda, recogidas por Mao *et al.*³⁴ con valores de desplazamiento isotópico elevados y las transiciones recopiladas en el libro *The Identification of Molecular Spectra*⁴³ que implican números cuánticos vibracionales mayores. A consecuencia del aumento en el volumen de muestra utilizado, fue necesario trabajar con un programa que presentase un secado más largo, aumentando el tiempo de estancia de las tres etapas de secado a 50, 60 y 20 segundos, respectivamente. Las longitudes de onda estudiadas, junto con sus desplazamientos isotópicos obtenidos mediante las ecuaciones teóricas 1.1 y 1.2, se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 3.4 Desplazamientos isotópicos teóricos de los espectro de diferentes longitudes de onda candidatas para el análisis isotópica

Longitud de onda central (nm)	ν'	ν''	$\Delta\lambda$ teórico (pm)
641,90	1	0	-42,4
639,47	1	0	-42,1
630,27	1	0	-41,0
628,31	1	0	-40,6
567,00	1	0	-31,5
372,19	0	1	14,7
364,10	0	0	-14,0
345,72	2	1	-15,1
292,96	3	1	-22,4

Únicamente con las longitudes de onda de 641,90 nm y 630,27 nm se llegó a apreciar señal, para el resto no se observó ningún pico en el espectro, salvo para el caso de la transición de 364,10 nm, para la que se pudo distinguir uno de muy baja intensidad en el espectro absorbancia-tiempo, siendo insuficiente para sacar conclusiones. Los espectros de interés se muestran en la figura 3.8.

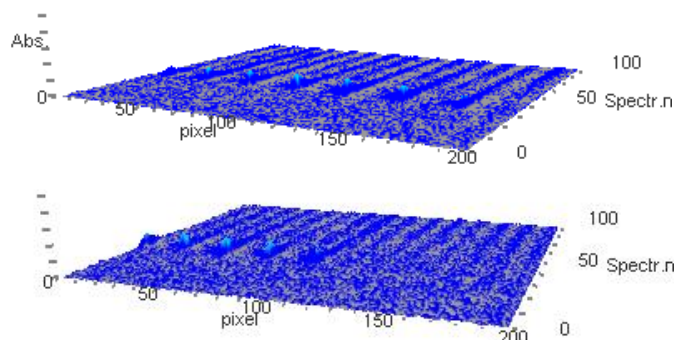


Figura 3.8 Espectros tridimensionales obtenidos a 630,27 nm (arriba) y 641,90 nm (abajo).

En el espectro obtenido a 630,27 nm se observan siete picos aproximadamente equidistantes; en cambio, en el espectro a 641,90 nm sólo se llegan a apreciar cinco, todos ellos por debajo del píxel 101 y uno de ellos aparece cortado, por lo que, para poder estudiar la evolución de todos ellos de forma simultánea, sería necesario emplear una longitud de onda central ligeramente inferior; además, es posible que, al bajar de longitud de onda, aparezcan nuevas señales en la ventana espectral. Para este trabajo se escogieron las transiciones del espectro de 630,27 nm para llevar a cabo el análisis isotópico porque ya fueron estudiadas por Mao *et al.*,³⁵ obteniendo un valor de desplazamiento experimental muy similar al teórico. Las señales que aparecen en ambos espectros son muy poco intensas, por lo tanto, para llevar a cabo el análisis isotópico, será necesario trabajar a concentraciones mayores.

3.3- Estudio de los parámetros analíticos de la transición seleccionada

Para evaluar la sensibilidad de los siete picos encontrados con la longitud de onda central de 630,27 nm, se construyó, para cada uno de ellos, una recta de calibrado a partir de disoluciones de estroncio natural con diferentes concentraciones entre 0 y 50 mg L⁻¹, preparadas por dilución de un patrón de 1000 mg L⁻¹. Las disoluciones se analizaron de forma repetida cinco veces, salvo el blanco, al que se le realizaron diez medidas, inyectando en la cámara de grafito alícuotas de 20 µL. Para maximizar la sensibilidad, las absorbancias de cada pico se obtuvieron mediante la evaluación de tres píxeles: el correspondiente al máximo y los dos adyacentes. La siguiente tabla compara la sensibilidad, pendiente, obtenida para cada una de las siete señales.

Tabla 3.5 Comparativa de la sensibilidad de los picos candidatos para el análisis isotópico. Incertidumbre expresada como desviación estándar.

Pico	λ máximo (nm)	Pendiente (s L mg ⁻¹)	R ²
1	629,862	0,00256 ± 0,00009	0,9952
2	629,976	0,00303 ± 0,00011	0,9945
3	630,093	0,00264 ± 0,00012	0,9913
4	630,216	0,00360 ± 0,00013	0,9945
5	630,340	0,00391 ± 0,00016	0,9930
6	630,469	0,00361 ± 0,00015	0,9932
7	630,601	0,00254 ± 0,00011	0,9919

En la tabla anterior se puede observar que el pico que aparece a 630,340 nm es el más sensible, por lo que es el que se escogió para llevar a cabo el análisis isotópico. Es importante subrayar que las rectas de calibrado no se han construido representando la absorbancia frente a la concentración de estroncio natural en las disoluciones, sino frente a la concentración de ⁸⁸Sr, ya que es el isótopo mayoritario y, a causa del desplazamiento isotópico, el resto de los isótopos no contribuirán a la señal del máximo; por el contrario, darán lugar a hombros en la señal principal. Por otra parte, no se está buscando evaluar la sensibilidad para una determinación de estroncio total, puesto que hay otras transiciones más sensibles, sino la sensibilidad para la determinación de un isótopo específico. La recta de calibrado del pico seleccionado se muestra en la figura 3.9 y los valores a partir de los cuales se ha construido, junto con los valores y rectas del resto de picos, se recogen, por claridad, en el anexo 3.

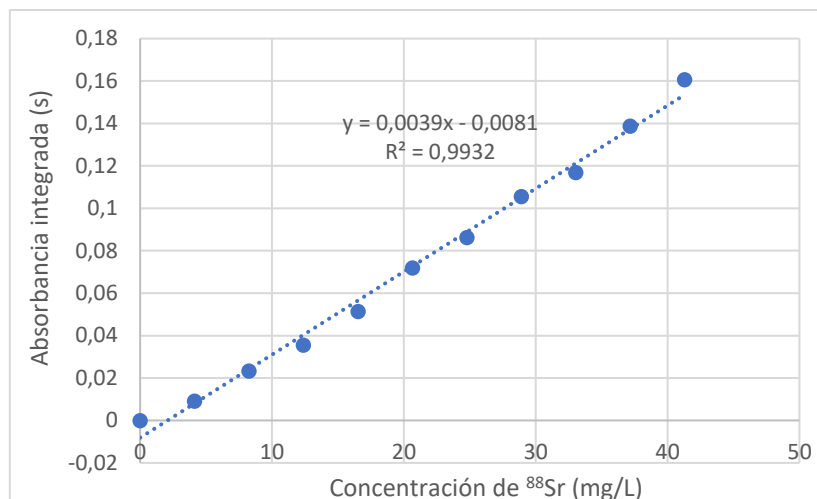


Figura 3.9 Recta de calibrado obtenida para el pico más sensible (630,340 nm), inyectando 20 μL de las disoluciones de patrón. La abs. int. se obtuvo durante 6,8 s.

A partir de los valores obtenidos de sensibilidad y ruido instrumental, desviación estándar de los blancos, se extrajeron los límites de detección y cuantificación: 0,92 mg L^{-1} y 3,1 mg L^{-1} , respectivamente. Ambos valores son considerablemente altos, por lo que se requieren concentraciones elevadas para el análisis isotópico.

Finalmente, una vez conocidos los valores de los límites de detección y cuantificación, se estudió el límite superior del rango lineal para evaluar la concentración máxima a la que se podría trabajar. Para ello, se prepararon disoluciones de patrón de estroncio natural hasta 2.000 mg L^{-1} o, lo que es lo mismo, 1651,6 mg L^{-1} de ^{88}Sr . Sin embargo, al no haber medido disoluciones de concentración entre 200 y 1000 mg L^{-1} de estroncio natural, no se puede determinar, de forma precisa, el límite superior del rango lineal que, de forma cualitativa, como se muestra en la figura 3.10, se puede intuir que se situará en el rango de concentraciones no estudiado. En la figura 3.10 se observa, además, que la relación absorbancia integrada-concentración de ^{88}Sr se tumba, para todos los picos, por encima de los 1.000 mg L^{-1} por el efecto de la luz parásita, ya que se alcanzan valores de absorbancia integrada muy elevados.

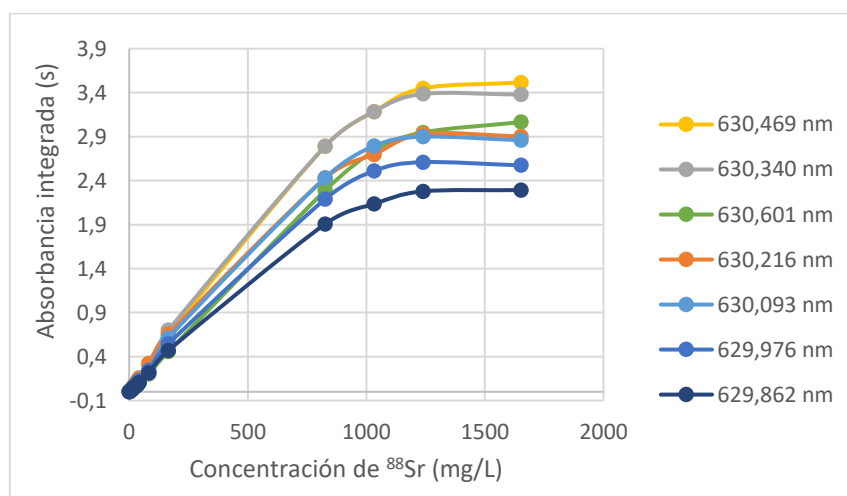


Figura 3.10 Estudio del rango lineal para las siete señales de la ventana espectral. Las abs. int. se obtuvieron con un tiempo de lectura de 6,8 s.

3.4- Análisis isotópico

Para llevar a cabo el análisis isotópico, se prepararon, por dilución de materiales de referencia, una disolución de 10 mg L⁻¹ de estroncio natural y otra, también de 10 mg L⁻¹, de estroncio dopado en isótopo 86, con abundancias de ⁸⁸Sr y ⁸⁶Sr del 3,69 % y 95,21 %, respectivamente. En primer lugar, se evaluó el desplazamiento isotópico mediante inyección, en la cámara de grafito, de 10 µL de la disolución de estroncio natural y 20 µL de la disolución de estroncio dopado, obteniéndose el espectro mostrado en la figura 3.11. En la figura se pueden apreciar siete parejas de picos, la señal de cada pareja que aparece a longitudes de onda menores corresponde a la molécula isotopóloga de ⁸⁶Sr y la que aparece para valores superiores, a la de ⁸⁸Sr, ya que la longitud de onda de su máximo corresponde a las medidas efectuadas en los apartados anteriores sobre estroncio natural, para el que la abundancia de ⁸⁸Sr es mucho mayor a la de ⁸⁶Sr. La diferencia de la longitud de onda a la que aparecen los dos picos de una misma pareja es el desplazamiento isotópico experimental, cuyos valores aparecen recogidos, para cada pareja de picos, en la tabla 3.6.

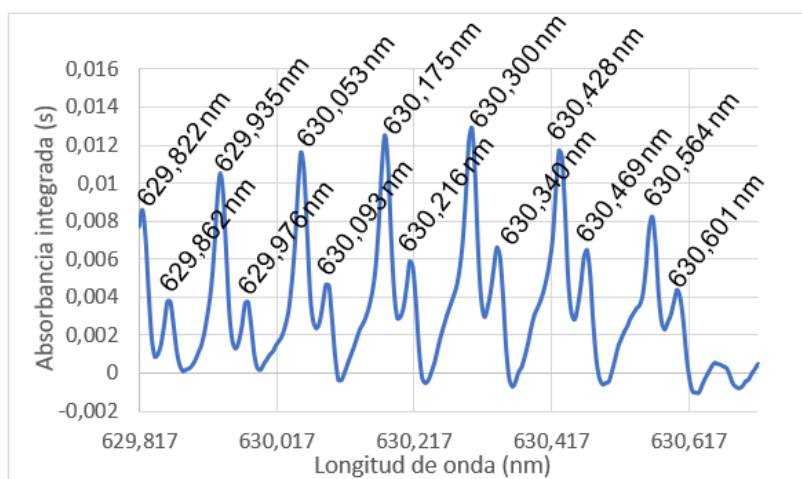


Figura 3.11 Espectro obtenido para la medida del desplazamiento isotópico.

Tabla 3.6 Valor de desplazamiento isotópico experimental para cada pareja de picos.

Pareja	λ máximo pico Sr 86 (nm)	λ máximo pico Sr 88 (nm)	$\Delta\lambda$ (pm)
1	629,822	629,862	-40
2	629,935	629,976	-41
3	630,053	630,093	-40
4	630,175	630,216	-41
5	630,300	630,340	-40
6	630,428	630,469	-41
7	630,564	630,601	-37

Los valores de desplazamiento isotópico observados concuerdan con el valor teórico, -41,0 pm, sólo la última pareja conduce a un resultado ligeramente mayor, lo que puede ser explicado por la resolución del instrumento, que no permite alcanzar una precisión suficiente en la identificación de los máximos. En vista de la concordancia entre los resultados experimentales y los teóricos, se puede concluir que, efectivamente, los dos picos implicados en el cálculo del desplazamiento isotópico corresponden a una señal de ⁸⁸Sr y una de ⁸⁶Sr. Es importante resaltar que las señales de ambos isótopos no están

totalmente resueltas, ya que la señal no baja hasta la línea base entre los picos de una misma pareja. Esto es debido, además de a la anchura inherente de las señales, a la presencia de ^{87}Sr en la mezcla inyectada que, al presentar una masa intermedia a la de los isótopos estudiados, seguramente dará lugar a una señal entre ambos.

Para terminar de evaluar las posibilidades del método para desempeñar un análisis isotópico, a partir de las disoluciones de 10 mg L^{-1} preparadas, se inyectaron en el horno de grafito y se analizaron por triplicado cinco mezclas con diferentes proporciones de ambas, tal y como se recoge en la tabla 3.7, y $20 \mu\text{L}$ de disolvente a modo de blanco. La sensibilidad de la señal de dos isótopos para una misma transición es, teóricamente, idéntica, por lo que la relación entre sus absorbancias debería coincidir con su relación isotópica. Es decir, se debería obtener, mediante la representación de las relaciones de las absorbancias de las moléculas isotópologas de las mezclas de la tabla 3.7 frente a su relación isotópica, una recta con una pendiente y ordenada en el origen con valor de 1 y 0, respectivamente. De acuerdo con las recomendaciones de Nakadi *et al.*,¹⁵ se trabajó con las absorbancias de los máximos de los picos sin integrar, alturas, en lugar de absorbancias integradas, áreas, y se evaluó un único píxel para cada señal, obteniéndose la representación mostrada en la figura 3.12. En el anexo 4 se comprueba que estas son las condiciones con las que se obtienen resultados más próximos a los teóricos. La mezcla 5 no se ha incluido en la recta, ya que su relación isotópica $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ difiere en gran medida de las demás.

Tabla 3.7 Mezclas de reactivos analizadas en el estudio isotópico y valores de absorbancia obtenidos.

Mezcla	Vol. Sr natural (μL)	Vol. Sr dopado (μL)	Moles ^{86}Sr (mmol)	Moles ^{88}Sr (mmol)	Relación isot. $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	Abs. ^{88}Sr (s)	Abs. ^{86}Sr (s)	Relación Abs. $^{88}\text{SrF}/^{86}\text{SrF}$
1	0	20	1,814	0,069	0,04	0,001	0,026	0,055
2	5	20	1,860	0,455	0,24	0,007	0,029	0,254
3	10	20	1,907	0,841	0,44	0,014	0,032	0,447
4	15	20	1,954	1,227	0,63	0,020	0,033	0,613
5	20	0	0,188	1,544	8,22	0,031	0,005	6,470

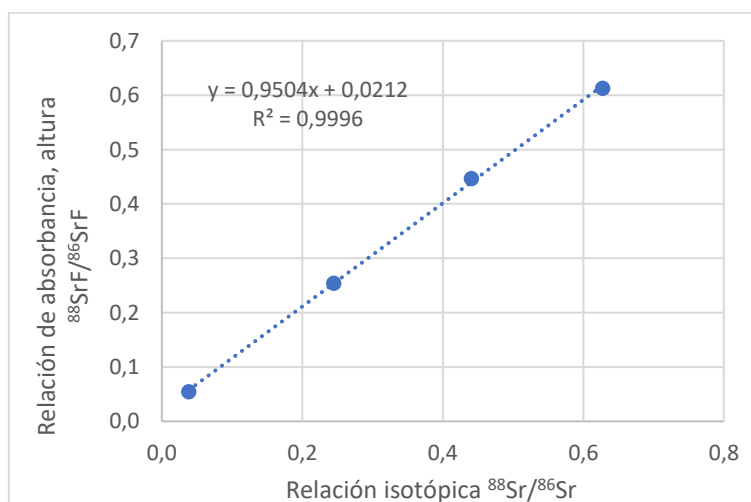


Figura 3.12 Representación de la evolución de la relación de absorbancia de la señal de $^{88}\text{SrF}/^{86}\text{SrF}$ frente a su relación isotópica.

La representación anterior presenta una pendiente inferior a la teórica y una ordenada en el origen superior, con valores de $0,950 \pm 0,014$ y $0,0212 \pm 0,0056$, respectivamente (incertidumbres expresadas como desviación estándar). Estas desviaciones pueden explicarse por el hecho de haber realizado el análisis isotópico consecutivamente del estudio del límite superior de linealidad, ya que, dadas las elevadas concentraciones de Sr natural a las que se sometió al horno de grafito, debieron quedar restos de Sr en el atomizador, que no llegaron a ser completamente eliminados en la etapa de limpieza, lo que se tradujo en la aparición de un efecto memoria, tal y como se muestra en la figura 3.13 a). Los restos de Sr natural, al ser mayoritariamente ^{88}Sr , acrecentaron la absorbancia de dicho isótopo, de manera que las relaciones de absorbancia $^{88}\text{SrF}/^{86}\text{SrF}$ medidas fueron mayores de lo esperado. El impacto del efecto memoria se vio disminuido conforme se fueron encadenando nuevos análisis, según se iban consumiendo los residuos de Sr, lo que se ve reflejado en la figura 3.13 b), donde se presentan, solapados, los espectros de los tres blancos analizados. Esta observación significa que el efecto memoria actúa como una interferencia proporcional, afectando en mayor medida, dado el orden de análisis, a la mezcla 1 que a la 5 y, por lo tanto, disminuyendo la pendiente.

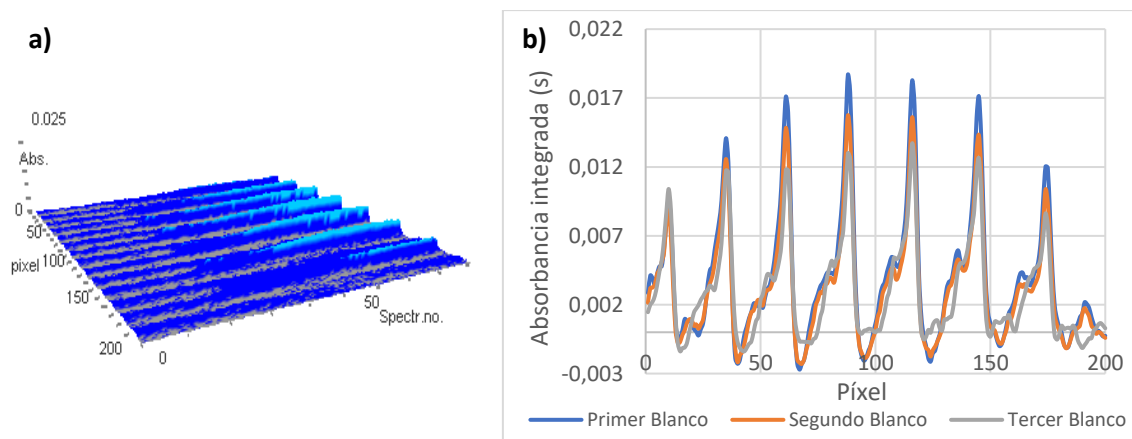


Figura 3.13 Representación del efecto memoria observado en el análisis de los blancos: espectro tridimensional de la primera réplica de los blancos (a) y evolución del espectro de absorción de los blancos a lo largo de tres réplicas.

La forma de paliar este tipo de incidentes consiste en aplicar, de forma repetida, programas de limpieza hasta que se observe que desaparece el efecto o, en casos extremos, sustituir el horno de grafito. Sin embargo, los datos de análisis isotópico que se han presentado no eran contemplados, en primera instancia, como resultado finales, sino como una primera prueba para, en función de los resultados, llevar a cabo, al día siguiente, un tipo de ensayo u otro. Este factor, junto con la necesidad de adecuarse a los márgenes de horarios del laboratorio, hizo que se optara por seguir con el programa de análisis planificado, pudiéndose repetir esta experimentación en el futuro; no obstante, la declaración del estado de alarma imposibilitó futuros estudios.

A pesar de no obtener los valores teóricos, la linealidad observada en la figura 3.12 es buena y las desviaciones parecen ser justificables por el efecto memoria; no obstante, es necesario llevar a cabo nuevos ensayos para evaluar si es la única causa o si, por el contrario, existen además efectos, análogos a las discriminaciones de masa, *mass bias*, de las técnicas basadas en espectrometría de masa, que afectan a la sensibilidad de ambos isótopos de forma diferente.

4- PARTE EXPERIMENTAL

4.1- Reactivos y disolventes

Las diluciones se han llevado a cabo con un disolvente preparado con 500 μL de ácido nítrico (HNO_3) 65 % (Merck), llevados a, aproximadamente, 50 mL en un tubo graduado con agua purificada, obtenida de un sistema Milli-Q (Millipore).

Para obtener las disoluciones de estroncio, se ha dispuesto de dos materiales de referencia: uno de estroncio de abundancias isotópicas naturales de 1.000 mg L^{-1} , (Merck), y otro, esta vez certificado, de estroncio reforzado en ^{86}Sr de 10 mg L^{-1} (SPEX CertiPrep), con abundancias de ^{86}Sr y ^{88}Sr del 95,21 y 3,69 %, respectivamente.

Como fluorantes se ha empleado NaF con un 99 % de pureza en masa (Panreac), $\text{NH}_4\text{F.HF}$ con pureza del 99,99 % en masa (Sigma Aldrich) y Argón metilfluorado 1 % en volumen (Praxair). La línea de Ar/H_2 empleada en el método se obtuvo mediante una botella 2 % en volumen de H_2 (Praxair).

Para el recubrimiento con Zr de plataforma se utilizó etanol 99,9 % (Merck) y un patrón de Zr de $1002 \pm 5 \text{ mg L}^{-1}$ (Merck).

La preparación de las distintas disoluciones de trabajo se desarrolla en el anexo 1.

4.2- Instrumentación

Las medidas se llevaron a cabo con el instrumento de HR-CS AAS contrAA® 800G (Analytik Jena), llevando las disoluciones al horno mediante su muestreador automático. Se trabajó tanto con hornos de grafito para análisis de sólidos como de líquidos (Analytik Jena), en función del muestreador automático instalado. La técnica de trabajo ha sido espectrometría de absorción molecular de alta resolución con fuente continua (HR-CS MAS).

Como material volumétrico se emplearon micropipetas de 2-20 μL y 20-200 μL (Capp), pipetas automáticas de 100-1000 μL y 1-5 mL (Capp), viales de 1,5 mL (Kartwell) y tubos graduados de 50 mL (VWR).

5- CONCLUSIONES

El análisis isotópico de estroncio resulta una línea de interés para la química analítica contemporánea, ya que tiene aplicaciones muy variadas que atañen a diferentes ramas científicas, como la geología, la biología, la física o la medicina. En este trabajo se ha diseñado un método para poder llevar a cabo análisis isotópicos de la relación $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ mediante espectroscopía de absorción molecular de alta resolución con fuente continua y atomización electrotérmica en horno de grafito (HR-CS GFMS). El menor requerimiento de preparación de muestra en comparación a las metodologías más convencionales, basada en espectrometría de masas, hace que esta técnica pueda llegar a ser competitiva; no obstante, este trabajo es sólo una primera aproximación con el objetivo de estudiar la posibilidad de desarrollar métodos de análisis isotópico de estroncio más elaborados para su aplicación en muestras concretas.

La principal vicisitud enfrentada durante el desarrollo del trabajo ha resultado ser la formación cuantitativa de la molécula de SrF , que se ha intentado maximizar mediante diferentes estrategias, mejorando notablemente la señal, pero todavía queda mucho por investigar al respecto.

En vista de los prometedores resultados, en cuanto a desplazamiento isotópico y linealidad de las señales isotópicas, que se han alcanzado, se va a seguir investigando esta línea para mejorar los parámetros analíticos y poder cuantificar también los isótopos ^{87}Sr y ^{84}Sr .

6- BIBLIOGRAFÍA

1. Welz, B. High-resolution Continuum Source AAS: The Better Way to Perform Atomic Absorption Spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, 381, 69-71; DOI: 10.1007/s00216-004-2891-8.
2. Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Crouch, S. R. Components of Optical Instruments. *Principles of instrumental analysis*, 7th ed.; Cengage Learning, 2018; Chapter 7, pp 167-169.
3. Welz, B.; Borges, D. L. G.; Heitmann, U. High-Resolution Continuum Source AAS and its Application to Food Analysis. In *The Determination of Chemical Elements in Food: Applications for Atomic and Mass Spectrometry*, 1st ed.; Caroli, S., Ed.; John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, 2007; Chapter 4, p 85.
4. Butcher, D. J. Molecular absorption spectrometry in flames and furnaces: A review. *Anal. Chim. Acta* **2013**, 804, 1-15; DOI: 10.1016/j.aca.2013.07.056.
5. Welz, B.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Heitmann, U. Special Features of HR-CS AAS. *High-Resolution Continuum Source AAS: The Better Way to Do Atomic Absorption Spectrometry*, 1st ed; Wiley-VCH: Weinheim, 2005; Chapter 4, 57-75.
6. Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Crouch, S. R. Atomic Absorption and Atomic Fluorescence Spectrometry. *Principles of instrumental analysis*, 7th ed.; Cengage Learning, 2018; Chapter 9, pp 211-212.
7. Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. *Encyclopedia of Analytical Chemistry* [Online]; John Wiley & Sons, Posted March 25, 2017. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9780470027318.a5108.pub3> (accessed July 7, 2020).
8. Resano, M.; Aramendía, M.; Belarra, M. A. High-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry for direct analysis of solid samples and complex materials: a tutorial review. *J. Anal. At. Spectrom.* **2014**, 29 (12), 2229-2250; DOI: 10.1039/C4JA00176A.
9. Resano, M.; Rello, L.; Flórez, M.; Belarra, M. A. On the possibilities of high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry for the simultaneous or sequential monitoring of multiple atomic lines. *Spectrochim. Acta Part B* **2011**, 66, 321-328; DOI: 10.1016/j.sab.2011.03.008.
10. Resano, M.; Flórez, M. R.; García-Ruiz, E. Progress in the determination of metalloids and non-metals by means of high-resolution continuum source atomic or molecular absorption spectrometry. A critical review. *Anal. Bioanal. Chem.* **2014**, 406, 2239-2259; DOI: 10.1007/s00216-013-7522-9.
11. Resano, M.; García-Ruiz, E.; Aramendía, M.; Belarra, M. A. Quo vadis high-resolution continuum source atomic/molecular absorption spectrometry? *J. Anal. At. Spectrom.* **2019**, 34 (1), 59-80; DOI: 10.1039/C8JA00256H.
12. Vanhaecke, F.; Kyser, K. The Isotopic Composition of the Elements. In *Isotopic Analysis*, 1st ed.; Vanhaecke, F., Degryse, P., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, 2012; Chapter 1, pp 1-29.
13. Resano, M.; Vanhaecke, F. Forensic Applications. In *Isotopic Analysis*, 1st ed.; Vanhaecke, F., Degryse, P., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, 2012; Chapter 15, pp 391-418.
14. Rashmi, D.; Shree, P.; Singh, D. K. Stable isotope ratio analysis in determining the geographical traceability of Indian wheat. *Food Control* **2017**, 79, 169-176; DOI: 10.1016/j.foodcont.2017.03.025.
15. Nakadi, F. V.; da Veiga, M. A. M. S.; Aramendía, M.; García-Ruiz, E.; Resano, M. Chlorine isotope determination via monitoring of the AlCl molecule by high resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry – A case study. *J. Anal. At. Spectrom.* **2015**, 30 (7), 1531-1540; DOI: 10.1039/c5ja00055f.

16. Wilsche, H.; Prattes, K.; Zischa, M.; Knapp, G. Estimation of boron isotope ratios using high resolution continuum source atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta Part B* **2009**, *64*, 341-346; DOI: 10.1016/j.sab.2009.03.008.
17. Bol'shakov, A. A.; Mao, X.; González, J. J.; Russo, R. E. Laser Ablation Molecular Isotopic Spectroscopy (LAMIS): current state of the art. *J. Anal. At. Spectrom.* **2016**, *31* (1), 119-134; DOI: 10.1039/C5JA00310E.
18. Herzberg, G. Elementary Discussion of Electronic States and Electronic Transitions. *Molecular Spectra and Molecule Structure*, 2nd ed.; Spectra of Diatomic Molecules, Vol. I; D. Van Nostrand: New York, 1950; p 162.
19. Meija, J.; Coplen, T. B.; Berglund, M.; Brand, W. A.; De Bièvre, P.; Gröning, M.; Holden, N. E.; Irrgeher, J.; Loss, R. D.; Walczyk, T.; Prohaska, T. Isotopic compositions of the elements 2013 (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem.* **2016**, *88* (3), 293-306; DOI: 10.1515/pac-2015-0503.
20. Elburg, M. A. Geochronological Dating. In *Isotopic Analysis*, 1st ed.; Vanhaecke, F., Degryse, P., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, 2012; Chapter 9, pp 235-274.
21. Whelton, H. L.; Lewis, J.; Halstead, P.; Isaakidou, V.; Triantaphyllou, S.; Tzevelekidi, V.; Kotsakis, K.; Evershed, R. P. Strontium isotope evidence for human mobility in the Neolithic of northern Greece. *J. Archeol. Sci.* **2018**, *20*, 768-774; DOI: 10.1016/j.jasrep.2018.06.020.
22. Zielinski, M.; Szczucinsk, A.; Drozdzyński, M.; Frankowski, M.; Pukacz, A. Water Quality Assessment of a Meromictic Lake Based on Physicochemical Parameters and Strontium Isotopes ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) Analysis: A Case Study of Lubinskie Lake (Western Poland). *Water*, **2019**, *11* (11), 2231; DOI: 10.3390/w11112231.
23. Böhlke, J.K.; Horan, M. Strontium isotope geochemistry of ground waters and streams affected by agriculture, Locust Grove, MD. *Appl. Geochem.* **2000**, *15*, 599-609; DOI: 10.1016/S0883-2927(99)00075-X.
24. Hosono, T.; Nakano, T.; Igeta, A.; Tayasu, I.; Tanaka, T.; Yachi, S. Impact of fertilizer on a small watershed of Lake Biwa: Use of sulfur and strontium in environmental diagnosis. *Sci. Total Environ.* **2007**, *384*, 342-354; DOI: 10.1016/j.scitotenv.2007.05.033.
25. Chapman, E.C.; Capo, R.C.; Stewart, B.W.; Hedin, R.S.; Weaver, T.J.; Edenborn, H.M. Strontium isotope quantification of siderite, brine and acid mine drainage contributions to abandoned gas well discharges in the Appalachian Plateau. *Appl. Geochem.* **2013**, *31*, 109-118; DOI: 10.1016/j.apgeochem.2012.12.011.
26. Vengosh, A.; Jackson, R.B.; Warner, N.; Darrah, T.H.; Kondash, A. A critical review of the risk to water resources from unconventional shale gas development and hydraulic fracturing in the United States. *Environ. Sci. Technol.* **2014**, *48*, 8334-8348; DOI: 10.1021/es405118y.
27. Sherman, L.S.; Blum, J.D.; Dvonch, J.T.; Gratz, L.E.; Landis, M.S. The use of Pb, Sr, and Hg isotopes in Great Lakes precipitation as a tool for pollution source attribution. *Sci. Total Environ.* **2015**, *502*, 362-374.
28. Zielinski, M.; Dopieralska, J.; Belka, Z.; Walczak, A.; Siepak, M.; Jakubowicz, M. Sr isotope tracing of multiple water sources in a complex river system, Noteć River, central Poland. *Sci. Total Environ.* **2016**, *548-549*, 307-316; DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.01.036.
29. Zielinski, M.; Dopieralska, J.; Belka, Z.; Walczak, A.; Siepak, M.; Jakubowicz, M. Strontium isotope identification of water mixing and recharge sources in a river system (Oder River, central Europe): A quantitative approach. *Hydrol. Process.* **2018**, *32*, 2597-2611; DOI: 10.1002/hyp.13220.
30. Négrel, P.; Ladenberger, A.; Reimann, C.; Birke, M.; Sadeghi, M. Distribution of Rb, Ga and Cs in agricultural land soils at European continental scale (GEMAS): Implications for weathering conditions and provenance. *Chem. Geol.* **2018**, *479*, 188-203; DOI: 10.1016/j.chemgeo.2018.01.009.
31. Nakadi, F. V.; da Veiga, M. A. M. S.; Aramendía, M.; García-Ruiz, E.; Resano, M. Br isotope determination via the monitoring of CaBr transitions using high-resolution

- continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry. Potential for direct determination of Br in solid samples using isotope dilution. *J. Anal. At. Spectrom.* **2016**, 31 (7), 1381-1390; DOI: 10.1039/C6JA00114A.
32. Abad, C.; Florek, S.; Becker-Ross, H.; Huang, M.; Heinrich, H.; Recknagel, S.; Vogl, J.; Jakubowski, N.; Panne, U. Determination of boron isotope ratios by high-resolution continuum source molecular absorption spectrometry using graphite furnace vaporizers. *Spectrochim. Acta Part B* **2017**, 136, 116-122; DOI: 10.1016/j.sab.2017.08.012.
 33. Zanatta, M. B. T.; Nakadi, F. V.; Resano, M.; da Veiga, M. A. M. S. Calcium isotope determination in urine samples via the monitoring of ^{44}CaF and ^{40}CaF molecules by high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **2019**, 34, 2280-2287; DOI: 10.1039/C9JA00233B.
 34. Latkoczy, C.; Prohaska, T.; Stingeder, G.; Teschler-nicola, M. Strontium isotope ratio measurements in prehistoric human bone samples by means of high-resolution inductively coupled plasma mass spectrometry (HR-ICP-MS). *Spectrochim. Acta Part B* **1998**, 13, 561-566; DOI: 10.1039/A800416A.
 35. Mao, X.; Bol'shakov, A. A.; Choi, I.; MacKay, C. P.; Perry, D. L.; Sorkhabi, O.; Russo, R. E. Laser Ablation Isotopic Spectrometry: Strontium and its isotopes. *Spectrochim. Acta Part B* **2011**, 66, 767-775; DOI: 10.1016/j.sab.2011.12.002.
 36. Aramendía, M.; Flórez, M. R.; Piette, M.; Vanhaecke, F.; Resano, M. Al determination in whole blood samples as AlF via high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry: potential application to forensic diagnosis of drowning. *J. Anal. At. Spectrom.* **2011**, 26, 1964-1973; DOI: 10.1039/c1ja10183h.
 37. Knudson, K. J.; Williams, H. M.; Buikstra, J. E.; Tomczak, P. D.; Gordon, G. W.; Anbar, A. D. Introducing $\delta^{88/86}\text{Sr}$ analysis in archaeology: A demonstration of the utility of strontium isotope fractionation in paleodietary studies. *J. Archeol. Sci.* **2010**, 37, 2352-2364. DOI: 10.1016/j.jas.2010.04.009.
 38. Shalev, N.; Lazar, B.; Halicz, L.; Stein, M.; Gavrieli, I.; Sandler, A.; Segal, I. Strontium Isotope Fractionation in Soils and Pedogenic Processes. *Procedia Earth Planet. Sci.* **2013**, 7, 790-793; DOI: 10.1016/j.proeps.2013.03.074.
 39. Tiwari, M.; Singh, A. K.; Sinha, D. K. Stable isotopes: tools for understanding past climatic conditions and their applications in chemostratigraphy. In *Chemostratigraphy*, 1st ed.; Ramkumar, M. Ed; Elsevier: Amsterdam, 2015; Chapter 3, pp 65-92.
 40. Woolf, A. A. Thermochemistry of Inorganic Fluorine Compounds. In *Advances in Inorganic Chemistry and Radiochemistry*, 1st ed; Emeléus, H. J., Sharpe, A. G., Eds.; Elsevier; Academic: New York, 1981; Vol. 24, p 25.
 41. Ozbek, N.; Akman, S. Method development for the determination of fluorine in water samples via the molecular absorption of strontium monofluoride formed in an electrothermal atomizer. *Spectrochim. Acta Part B* **2012**, 69, 32-37; DOI: 10.1016/j.sab.2012.03.003.
 42. Abad, C.; Florek, S.; Becker-Ross, H.; Huang, M.; Buzanich, A. G.; Radtke, M.; Lippitz, A.; Hodoroaba, V.; Schmid, T.; Heinrich, H.; Recknagel, S.; Jakubowski, N.; Panne, U. Zirconium permanent modifiers for graphite furnaces used in absorption spectrometry: understanding their structure and mechanism of action. *J. Anal. At. Spectrom.* **2018**, 33 (12), 2034-2042; DOI: 10.1039/c8ja00190a.
 43. Pearse, R. W. B.; Gaydon, A. G. The identification of molecular spectra, 4th ed; John Wiley & Sons: New York, 1976; pp 335-336.

ANEXOS

Anexo 1- Preparación de disoluciones

Todas las disoluciones de estroncio llevadas a cabo se prepararon directamente sobre viales o tubos graduados, inyectando con micropipeta o pipeta automática los volúmenes necesarios, tal y como se detalla en la tabla A.1. Todas las diluciones se llevaron a cabo con el disolvente 1 % en volumen de HNO_3 preparado.

Tabla A.1 *Preparación de las disoluciones de Sr.*

Concentración de Sr natural	Preparación
100 mg L ⁻¹	Dilución de 5 mL de patrón de Sr (1000 mg L ⁻¹) a 50 mL en tubo graduado.
1 mg L ⁻¹	Dilución de 500 µL de disolución de Sr (100 mg L ⁻¹) a 50 mL en tubo graduado.
100 µg L ⁻¹	Dilución de 500 µL de disolución de Sr (1 mg L ⁻¹) a 50 mL en tubo graduado.
5 mg L ⁻¹	Dilución de 50 µL de disolución de Sr (100 mg L ⁻¹) a 1 mL en vial.
10 mg L ⁻¹	Dilución de 100 µL de disolución de Sr (100 mg L ⁻¹) a 1 mL en vial.
15 mg L ⁻¹	Dilución de 150 µL de disolución de Sr (100 mg L ⁻¹) a 1 mL en vial.
20 mg L ⁻¹	Dilución de 200 µL de disolución de Sr (100 mg L ⁻¹) a 1 mL en vial.
25 mg L ⁻¹	Dilución de 250 µL de disolución de Sr (100 mg L ⁻¹) a 1 mL en vial.
30 mg L ⁻¹	Dilución de 300 µL de disolución de Sr (100 mg L ⁻¹) a 1 mL en vial.
35 mg L ⁻¹	Dilución de 350 µL de disolución de Sr (100 mg L ⁻¹) a 1 mL en vial.
40 mg L ⁻¹	Dilución de 400 µL de disolución de Sr (100 mg L ⁻¹) a 1 mL en vial.
45 mg L ⁻¹	Dilución de 450 µL de disolución de Sr (100 mg L ⁻¹) a 1 mL en vial.
50 mg L ⁻¹	Dilución de 500 µL de disolución de Sr (100 mg L ⁻¹) a 1 mL en vial.
200 mg L ⁻¹	Dilución de 200 µL de disolución de Sr (1000 mg L ⁻¹) a 1 mL en vial.

Las disoluciones de 1250, 1500 y 2000 mg L⁻¹ de Sr natural no aparecen en la tabla A.1 porque no se prepararon realmente, dado que su concentración es superior a la del patrón. Para obtener sus valores de absorbancia integrada en el estudio del rango lineal, en lugar de 20 µL, se inyectaron en el horno de grafito 25, 30 y 40 µL del patrón de Sr

natural de 1000 mg L^{-1} , respectivamente, aumentando el tiempo de estancia de las tres etapas de secado desde 20, 30 y 10 segundos hasta 30, 50 y 25 segundos, observándose un secado sin salpicaduras en casi todas las medidas. Dado que la señal medida con atomizadores electrotérmicos es, en realidad, proporcional a la masa introducida, las absorbancias cuantificadas deberían ser análogas a las que se hubieran obtenido inyectando $20 \text{ }\mu\text{L}$ de las disoluciones de elevada concentración.

En la tabla A.2 se resume la preparación de las disoluciones del resto de reactivos utilizados en el desarrollo de trabajo.

Tabla A.2 *Preparación de las disoluciones de fluorantes y modificantes.*

Disolución	Preparación
Fluorante $\text{NH}_4\text{F}.\text{HF}$ (5 % masa)	2,5880 g de $\text{NH}_4\text{F}.\text{HF}$ (99,99 %) diluidos a 50 mL en tubo graduado con disolución 1 % de nítrico. Conc. real: 5,18 % masa
$\text{NH}_4\text{F}.\text{HF}$ ensayo inverso ($100 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$)	1) Preparación disolución intermedia: 0,0047 g de $\text{NH}_4\text{F}.\text{HF}$ (99,99 %) diluidos a 50 mL en tubo graduado con disolución 1 % de nítrico. Concentración: 94 mg L^{-1} 2) Preparación disolución final: 50 μL de disolución intermedia diluidos a 50 mL con disolución 1 % de nítrico. Conc. real: $94 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$
Fluorante NaF (5 % masa)	1,2500 g de NaF (99 %) diluidos a 25 mL en tubo graduado con disolución 1 % en nítrico. Conc. real: 4,95 % masa
Disolución recubrimiento Zr (10 mg L^{-1} Zr y 50 % v/v etanol)	Dilución de 200 μL de patrón de Zr (1002 mg L^{-1}) y 10 mL de etanol (>99,9 %) a 20 mL en tubo graduado con agua purificada. Conc. real: $10,02 \text{ mg L}^{-1}$

Anexo 2- Optimización del programa de temperaturas para NH₄F.HF

Tabla A.3 *Medidas de absorbancia integrada en la optimización de la temperatura de vaporización con temperatura de pirólisis constante (800°C).*

T vapor. (°C)	1800	1900	2000	2100	2200	2300	2400	2500
Réplica 1 Abs. Int. (s)	0,003	0,005	0,007	0,013	0,015	0,021	0,020	0,024
Réplica 2 Abs. Int. (s)	0,004	0,007	0,010	0,013	0,016	0,020	0,022	0,019
Réplica 3 Abs. Int. (s)	0,005	0,008	0,009	0,014	0,018	0,022	0,022	0,023
Abs. Int. media (s)	0,004	0,007	0,009	0,013	0,017	0,021	0,021	0,022
s _{ins} (s)	0,001	0,002	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	0,003
RSD	26,5%	24,9%	20,6%	6,5%	8,3%	4,4%	7,0%	12,3%

Tabla A.4 *Medidas de absorbancia integrada media para la optimización de la temperatura de pirólisis con temperatura de vaporización constante (2400°C).*

T atom. (°C)	500	600	700	800	900	1000	1100
Abs. Int. media (s)	0,023	0,023	0,023	0,023	0,023	0,022	0,020
s _{ins} (s)	0,005	0,001	0,004	0,002	0,004	0,004	0,003
RSD	21,5%	2,9%	18,8%	10,8%	15,8%	16,4%	16,8%

Para maximizar los valores de absorbancia medidos, la absorbancia integrada se obtuvo mediante evaluación de tres píxeles: el del máximo y los dos adyacentes.

Anexo 3- Estudio de la linealidad para los 6 picos no seleccionados

Tabla A.5 Medidas para la construcción de la recta de calibrado a $\lambda = 629,862 \text{ nm}$.

Conc. Sr total (mg L ⁻¹)	Conc. ⁸⁸ Sr (mg L ⁻¹)	Medidas repetidas de absorbancia integrada (s)					Abs. int media (s)	s ins (s)
0	0	0,003	0,005	-0,003	-0,003	-0,003	0,000	2,8E-03
		0,000	0,000	-0,001	0,000	-0,002		
5	4,129	0,005	0,005	0,006	0,008	0,007	0,006	1,5E-03
10	8,258	0,015	0,013	0,015	0,014	0,015	0,015	1,2E-03
15	12,387	0,018	0,025	0,026	0,026	0,025	0,024	3,1E-03
20	16,516	0,037	0,036	0,037	0,036	0,036	0,036	5,7E-04
25	20,645	0,051	0,049	0,049	0,049	0,048	0,049	1,1E-03
30	24,774	0,059	0,058	0,057	0,059	0,056	0,058	1,2E-03
35	28,903	0,073	0,067	0,067	0,067	0,068	0,068	2,9E-03
40	33,032	0,074	0,080	0,078	0,075	0,077	0,077	2,6E-03
45	37,161	0,090	0,089	0,094	0,092	0,090	0,091	1,9E-03
50	41,290	0,102	0,104	0,104	0,105	0,107	0,105	1,6E-03
100	82,580	0,218	0,214	0,214			0,215	2,5E-03
200	165,160	0,468	0,462	0,478	0,478	0,464	0,470	7,7E-03
1000	825,800	1,863	1,910	1,947			1,907	4,2E-02
1250	1032,250	2,146	2,123				2,135	1,6E-02
1500	1238,700	2,194	2,264	2,302	2,304	2,326	2,278	5,2E-02
2000	1651,600	2,288	2,297				2,293	6,2E-03

El bloque inferior de concentraciones medidas corresponde a las efectuadas para el estudio del límite superior del rango lineal. Las celdas que aparecen vacías corresponden a resultados anómalos, que fueron eliminados mediante un test G de Grubbs al 95 % de confianza, y a medidas en las que se observaron salpicaduras en el secado y, por lo tanto, no se consideraron válidas.

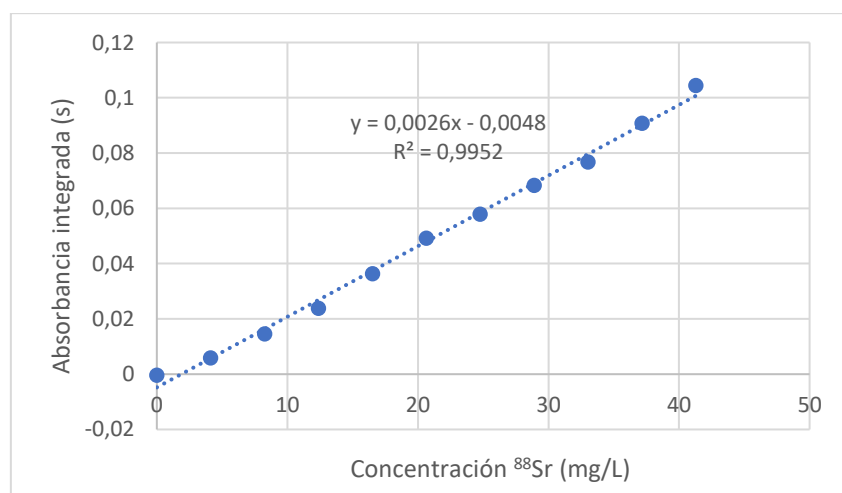


Figura A.1 Recta de calibrado obtenida con inyecciones de 20 μL a $\lambda = 629,862 \text{ nm}$.

Tabla A.6 Medidas para la construcción de la recta de calibrado a $\lambda = 629,976 \text{ nm}$.

Conc. Sr total (mg L ⁻¹)	Conc. ⁸⁸ Sr (mg L ⁻¹)	Medidas repetidas de absorbancia integrada (s)					Abs. int media (s)	s ins (s)
0	0	-0,002	0,001	0,002	0,006	0,002	0,003	2,2E-03
		0,004	0,004	0,002	0,003	0,003		
5	4,129	0,011	0,011	0,011	0,011	0,011	0,011	2,6E-04
10	8,258	0,018	0,016	0,022	0,022	0,022	0,020	2,7E-03
15	12,387	0,025	0,033	0,036	0,033	0,033	0,032	4,1E-03
20	16,516	0,044	0,046	0,044	0,045	0,044	0,045	8,8E-04
25	20,645	0,061	0,059	0,060	0,061	0,061	0,060	1,0E-03
30	24,774	0,072	0,072	0,072	0,071	0,068	0,071	1,7E-03
35	28,903	0,087	0,082	0,084	0,083	0,085	0,084	1,8E-03
40	33,032	0,089	0,097	0,095	0,092	0,094	0,094	2,9E-03
45	37,161	0,110	0,108	0,114	0,112	0,110	0,111	2,2E-03
50	41,290	0,124	0,127	0,129	0,127	0,131	0,128	2,4E-03
100	82,580	0,252	0,239	0,241			0,244	6,8E-03
200	165,160	0,539	0,532	0,553	0,557	0,546	0,545	1,0E-02
1000	825,800	2,141	2,200	2,227			2,189	4,4E-02
1250	1032,250	2,484	2,539				2,511	3,9E-02
1500	1238,700	2,526	2,580	2,624	2,651	2,669	2,610	5,8E-02
2000	1651,600	2,555	2,523	2,644			2,574	6,3E-02

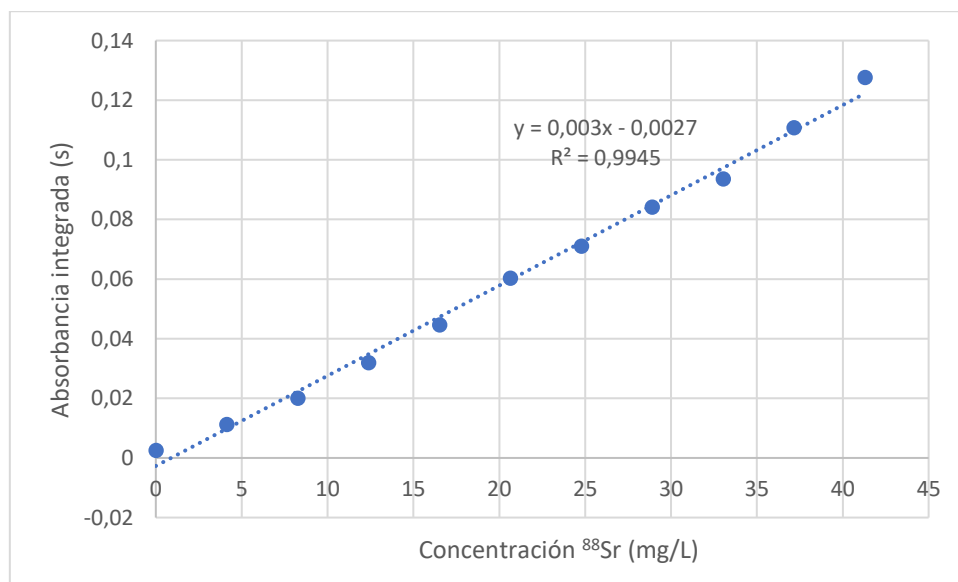


Figura A.2 Recta de calibrado obtenida con inyecciones de 20 μL a $\lambda = 629,976 \text{ nm}$.

Tabla A.7 Medidas para la construcción de la recta de calibrado a $\lambda = 630,093 \text{ nm}$.

Conc. Sr total (mg L ⁻¹)	Conc. ⁸⁸ Sr (mg L ⁻¹)	Medidas repetidas de absorbancia integrada (s)					Abs. int media (s)	s ins (s)
0	0	-0,007	-0,002	0,002	0,003	0,003	0,001	3,1E-03
		0,003	0,002	0,002	0,002	0,004		
5	4,129	0,009	0,009	0,008	0,007	0,008	0,008	1,1E-03
10	8,258	0,016	0,016	0,017	0,017	0,017	0,017	7,2E-04
15	12,387	0,018	0,026	0,029	0,026	0,026	0,025	4,3E-03
20	16,516	0,036	0,037	0,034	0,038	0,035	0,036	1,5E-03
25	20,645	0,051	0,048	0,049	0,050	0,052	0,050	1,6E-03
30	24,774	0,062	0,059	0,060	0,058	0,054	0,059	2,8E-03
35	28,903	0,074	0,074	0,074	0,071	0,073	0,073	1,5E-03
40	33,032	0,073	0,083	0,080	0,079	0,080	0,079	3,6E-03
45	37,161	0,094	0,089	0,097	0,095	0,096	0,094	2,9E-03
50	41,290	0,107	0,109	0,115	0,108	0,115	0,111	3,8E-03
100	82,580	0,226	0,205	0,211			0,214	1,1E-02
200	165,160	0,605	0,593	0,620	0,627	0,615	0,612	1,3E-02
1000	825,800	2,377	2,443	2,473			2,431	4,9E-02
1250	1032,250	2,770	2,818				2,794	3,4E-02
1500	1238,700	2,804	2,863	2,914	2,946	2,970	2,899	6,6E-02
2000	1651,600	2,839	2,796	2,944			2,860	7,6E-02

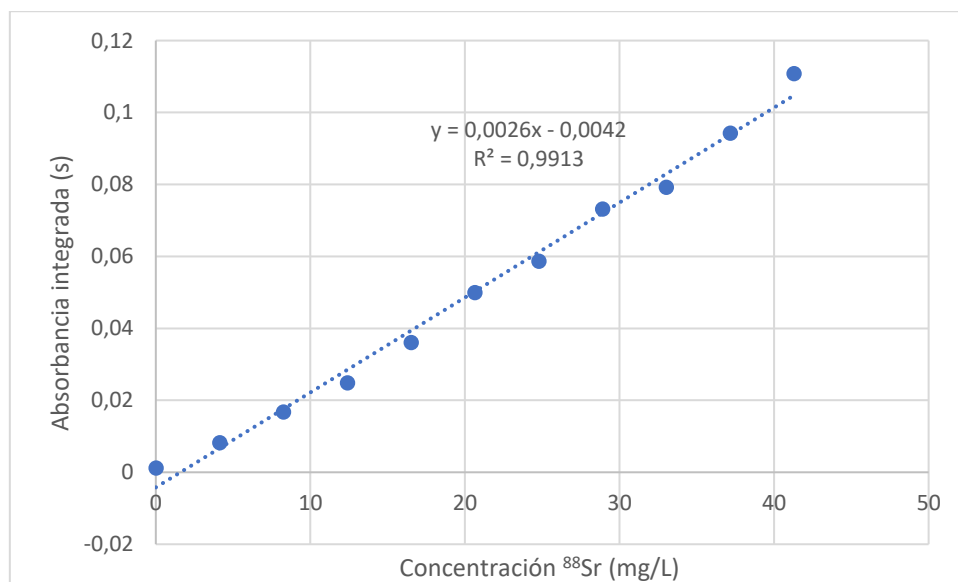


Figura A.3 Recta de calibrado obtenida con inyecciones de 20 μL a $\lambda = 630,093 \text{ nm}$.

Tabla A.8 Medidas para la construcción de la recta de calibrado a $\lambda = 630,216 \text{ nm}$.

Conc. Sr total (mg L ⁻¹)	Conc. ⁸⁸ Sr (mg L ⁻¹)	Medidas repetidas de absorbancia integrada (s)					Abs. int media (s)	s ins (s)
0	0	0,000	-0,002	0,003	0,004	0,004	0,002	1,9E-03
		0,004	0,003	0,002	0,003	0,004		
5	4,129	0,012	0,013	0,011	0,010	0,011	0,011	1,1E-03
10	8,258	0,022	0,025	0,024	0,024	0,024	0,024	9,5E-04
15	12,387	0,036	0,037	0,040	0,037	0,037	0,037	1,7E-03
20	16,516	0,048	0,051	0,050	0,049	0,053	0,050	1,9E-03
25	20,645	0,071	0,068	0,069	0,072	0,067	0,069	2,1E-03
30	24,774	0,083	0,082	0,083	0,085	0,085	0,084	1,2E-03
35	28,903	0,097	0,096	0,098	0,097	0,098	0,097	1,0E-03
40	33,032	0,112	0,114	0,115	0,106	0,110	0,111	3,5E-03
45	37,161	0,130	0,132	0,131	0,134	0,129	0,131	2,0E-03
50	41,290	0,150	0,156	0,145	0,151	0,148	0,150	4,2E-03
100	82,580	0,317	0,318	0,325			0,320	4,0E-03
200	165,160	0,656	0,675	0,652	0,661	0,618	0,653	2,1E-02
1000	825,800	2,349	2,417	2,519			2,429	8,6E-02
1250	1032,250	2,656	2,738				2,697	5,8E-02
1500	1238,700	2,784	2,972	3,008	2,924	2,965	2,931	8,7E-02
2000	1651,600	2,805	3,023	2,879			2,902	1,1E-01

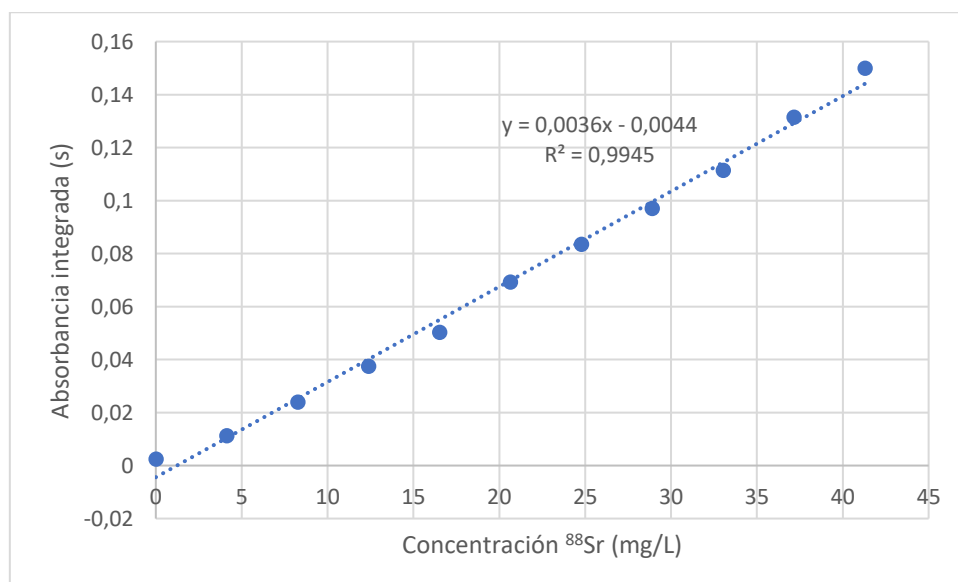


Figura A.4 Recta de calibrado obtenida con inyecciones de 20 μL a $\lambda = 630,216 \text{ nm}$.

Tabla A.9 Medidas para la construcción de la recta de calibrado a $\lambda = 630,340 \text{ nm}$ (Pico seleccionado).

Conc. Sr total (mg L ⁻¹)	Conc. ⁸⁸ Sr (mg L ⁻¹)	Medidas repetidas de absorbancia integrada (s)					Abs. int media (s)	s (s)
0	0	0,002	-0,002	-0,001	0,001	0,000	0,000	1,2E-03
		0,001	0,000	0,001	0,000	0,001		
5	4,129	0,010	0,010	0,009	0,008	0,009	0,009	9,0E-04
10	8,258	0,025	0,025	0,023	0,022	0,021	0,023	1,6E-03
15	12,387	0,028	0,036	0,040	0,037	0,036	0,035	4,3E-03
20	16,516	0,050	0,053	0,050	0,052	0,052	0,051	1,4E-03
25	20,645	0,073	0,070	0,071	0,073	0,072	0,072	1,4E-03
30	24,774	0,088	0,087	0,087	0,087	0,083	0,086	1,6E-03
35	28,903	0,108	0,109	0,104	0,103	0,105	0,106	2,5E-03
40	33,032	0,113	0,121	0,119	0,115	0,116	0,117	3,3E-03
45	37,161	0,138	0,135	0,141	0,140	0,138	0,139	2,4E-03
50	41,29	0,157	0,161	0,163	0,160	0,163	0,161	2,2E-03
100	82,580	0,332	0,314	0,320			0,322	9,6E-03
200	165,160	0,695	0,683	0,708	0,714	0,695	0,700	1,4E-02
1000	825,800	2,728	2,795	2,849			2,791	6,1E-02
1250	1032,250	3,168	3,201				3,185	2,4E-02
1500	1238,700	3,275	3,360	3,424	3,422	3,448	3,386	7,0E-02
2000	1651,600	3,330	3,357	3,447			3,378	6,1E-02

Tabla A.10 Medidas para la construcción de la recta de calibrado a $\lambda = 630,469 \text{ nm}$.

Conc. Sr total (mg L ⁻¹)	Conc. ⁸⁸ Sr (mg L ⁻¹)	Medidas repetidas de absorbancia integrada (s)					Abs. int media (s)	s ins (s)
0	0	0,003	-0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	1,4E-03
		0,002	0,002	0,003	0,001	0,003		
5	4,129	0,011	0,010	0,010	0,008	0,009	0,010	1,0E-03
10	8,258	0,023	0,026	0,022	0,021	0,022	0,023	1,8E-03
15	12,387	0,030	0,035	0,038	0,035	0,034	0,035	3,0E-03
20	16,516	0,046	0,050	0,047	0,048	0,051	0,048	2,0E-03
25	20,645	0,069	0,065	0,067	0,068	0,066	0,067	1,6E-03
30	24,774	0,082	0,081	0,081	0,081	0,080	0,081	5,4E-04
35	28,903	0,100	0,100	0,098	0,096	0,098	0,098	1,5E-03
40	33,032	0,108	0,113	0,112	0,106	0,109	0,110	2,8E-03
45	37,161	0,128	0,128	0,130	0,131	0,129	0,129	1,1E-03
50	41,290	0,148	0,152	0,149	0,148	0,149	0,149	1,6E-03
100	82,580	0,312	0,301	0,306			0,306	5,7E-03
200	165,160	0,652	0,648	0,658	0,666	0,638	0,653	1,0E-02
1000	825,800	2,724	2,784	2,865			2,791	7,1E-02
1250	1032,250	3,152	3,214				3,183	4,3E-02
1500	1238,700	3,328	3,453	3,512	3,462	3,491	3,449	7,2E-02
2000	1651,600	3,426	3,575	3,546			3,516	7,9E-02

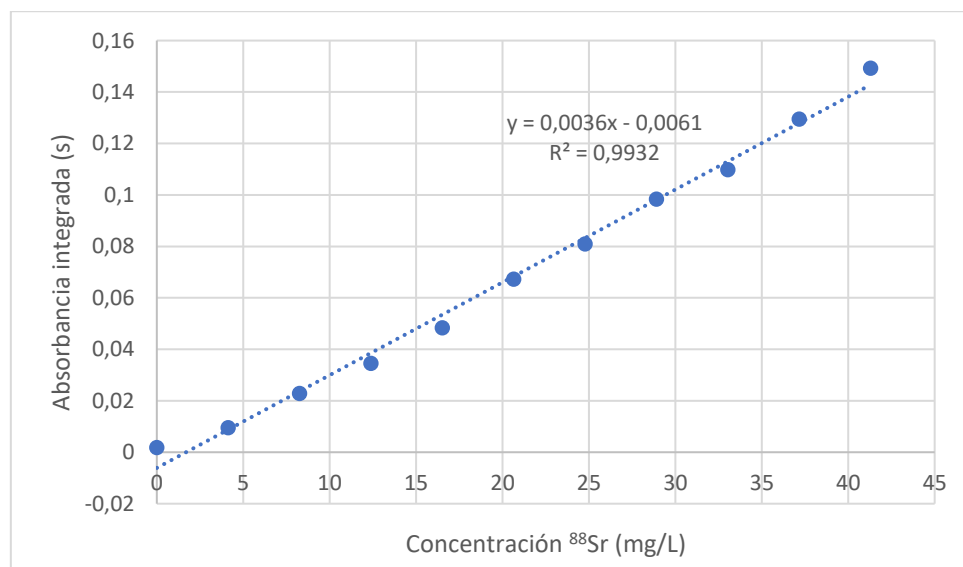


Figura A.5 Recta de calibrado obtenida con inyecciones de 20 μL a $\lambda = 630,469 \text{ nm}$.

Tabla A.11 Medidas para la construcción de la recta de calibrado a $\lambda = 630,601$ nm.

Conc. Sr total (mg L ⁻¹)	Conc. ⁸⁸ Sr (mg L ⁻¹)	Medidas repetidas de absorbancia integrada (s)					Abs. int media (s)	s ins (s)
0	0	0,003	-0,002	0,002	0,002	0,001	0,002	1,4E-03
		0,003	0,002	0,002	0,001	0,003		
5	4,129	0,008	0,008	0,007	0,006	0,006	0,007	1,1E-03
10	8,258	0,017	0,017	0,016	0,016	0,016	0,016	5,8E-04
15	12,387	0,019	0,024	0,028	0,024	0,024	0,024	3,2E-03
20	16,516	0,034	0,035	0,033	0,035	0,034	0,034	9,5E-04
25	20,645	0,048	0,046	0,047	0,048	0,048	0,047	9,4E-04
30	24,774	0,058	0,058	0,058	0,057	0,054	0,057	1,6E-03
35	28,903	0,071	0,073	0,070	0,068	0,069	0,070	1,7E-03
40	33,032	0,073	0,081	0,077	0,076	0,078	0,077	2,6E-03
45	37,161	0,091	0,088	0,093	0,092	0,092	0,091	2,0E-03
50	41,290	0,103	0,105	0,108	0,105	0,107	0,106	2,1E-03
100	82,580	0,213	0,198	0,202			0,205	7,6E-03
200	165,160	0,454	0,438	0,462	0,468	0,459	0,456	1,2E-02
1000	825,800	2,244	2,285	2,332			2,287	4,4E-02
1250	1032,250	2,708	2,765				2,737	4,0E-02
1500	1238,700	2,894	2,926	2,968	2,982	2,971	2,948	3,7E-02
2000	1651,600	3,037	3,086	3,073			3,065	2,6E-02

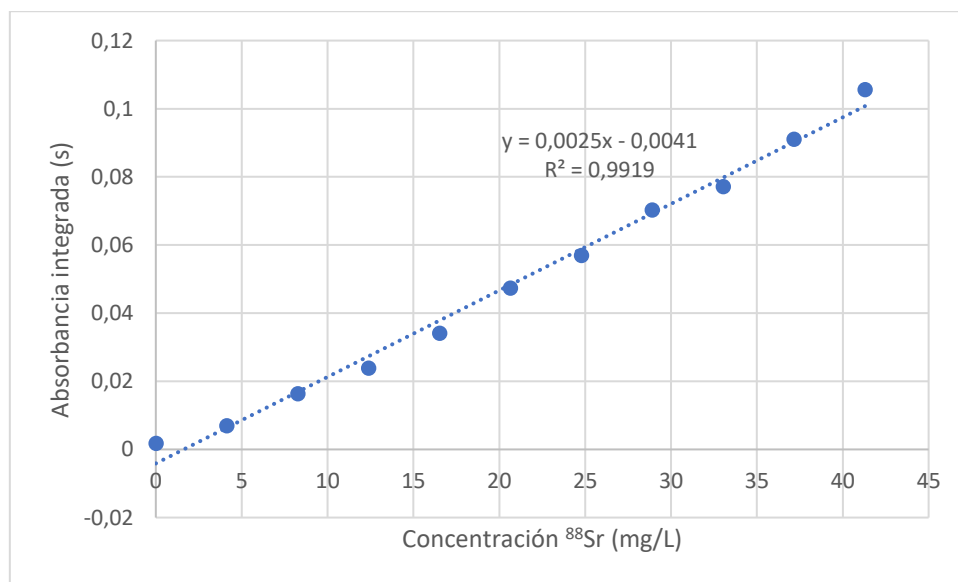


Figura A.6 Recta de calibrado obtenida con inyecciones de 20 μ L a $\lambda = 630,601$ nm.

Anexo 4- Optimización del tratamiento de datos para el análisis isotópico

Para obtener el valor de las señales de los picos implicados en el análisis isotópico, se probaron diferentes metodologías de tratamiento de datos, trabajando con áreas o alturas y modificando el número de píxeles evaluados.

El efecto memoria observado en el análisis de los blancos hizo que fuera necesaria una optimización del tiempo de integración del trabajo con áreas para minimizar su impacto. La figura A.7 muestra el contorno del espectro tridimensional de una de las réplicas del blanco y de la mezcla analizada para medir los desplazamientos isotópicos, carente del efecto del Sr residual, ya que se midió días antes del estudio de linealidad. Se puede observar que los picos cuya absorbancia se cuantifica para el análisis isotópico aparecen por debajo del espectro 40, correspondiente a 2,9 segundos desde el comienzo de la vaporización, mientras que casi toda la señal de los residuos de Sr aparece en los espectros superiores.

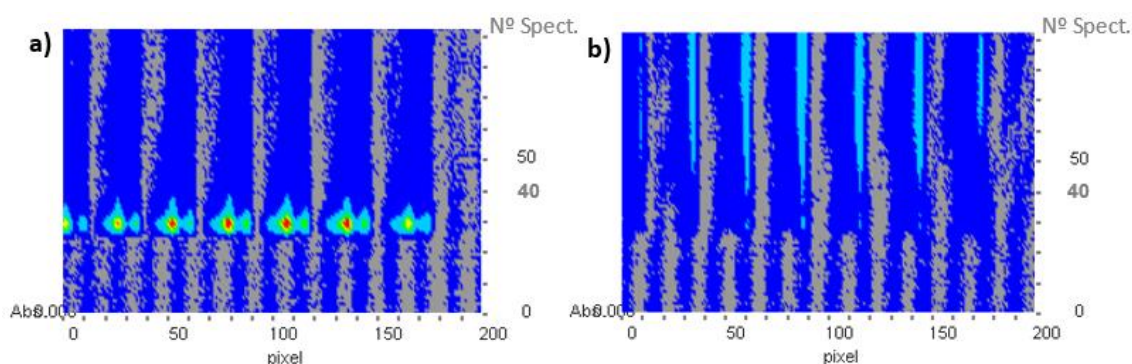


Figura A.7 Comparativa del contorno del espectro tridimensional de la mezcla empleada para la cuantificación del desplazamiento isotópico (a) y la primera réplica del análisis del blanco (b).

En vista de los espectros mostrados en la figura A.7, las absorbancias integradas para el análisis isotópico con áreas se obtuvieron con las medidas de los primeros 2,9 segundos desde el inicio de la etapa de vaporización. La figura A.8 muestra, de manera comparativa, el espectro promedio de los tres blancos en función del tiempo de lectura, demostrándose que el impacto del efecto memoria se ve claramente reducido con la disminución del tiempo de integración.

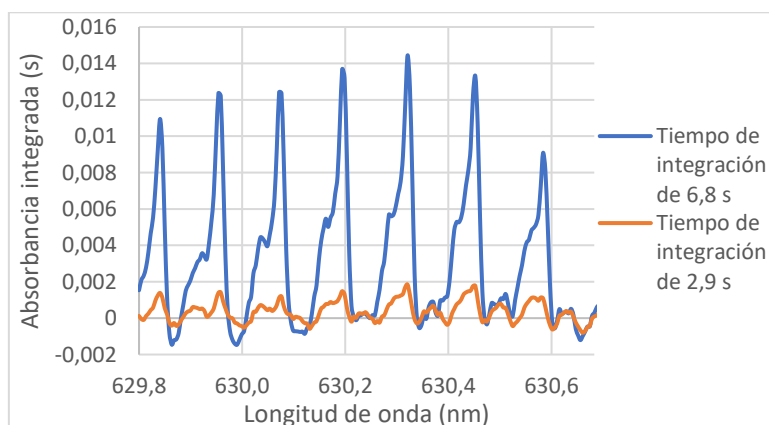


Figura A.8 Variación del espectro de absorción promedio de las réplicas de los blancos en función del tiempo de integración.

Con el objetivo de establecer el método óptimo de tratamiento de datos para el análisis isotópico de Sr, se probaron las estrategias mostradas en la tabla A.12, donde también aparecen los resultados obtenidos para el análisis isotópico.

Tabla A.12 Comparación de los resultados obtenidos con diferentes métodos de tratamiento de datos. Incertidumbre expresada como desviación estándar.

Mezcla	Relación isot. $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	Relación absorbancias según método de tratamiento de datos				
		Áreas 1 píxel	Áreas 3 píxeles	Alturas 1 píxel	Alturas 3 píxeles	Alturas 5 píxeles
1	0,04	0,144	0,141	0,055	0,051	0,052
2	0,24	0,336	0,338	0,254	0,255	0,259
3	0,44	0,513	0,514	0,447	0,445	0,447
4	0,63	0,684	0,672	0,613	0,606	0,603
5	8,22	5,094	4,902	6,470	6,348	5,803
Pendiente recta		0,915	0,901	0,950	0,944	0,937
Incertidumbre		0,005	0,016	0,014	0,021	0,027
Ordenada en el origen		0,1103	0,1118	0,0212	0,0204	0,0240
Incertidumbre		0,0019	0,0066	0,0056	0,0087	0,0107
R²		0,9999	0,9993	0,9996	0,9990	0,9984

Para comparar los resultados obtenidos con cada método de tratamiento de datos, se llevó a cabo un test t de una cola al 95 % de confianza como contraste de significación, concluyendo que las pendientes obtenidas con el estudio de áreas son significativamente menores a las del estudio de alturas, justo lo contrario a lo que se concluye para las ordenadas en el origen, por lo que el trabajo con alturas conduce a resultados significativamente más cercanos a los teóricos. También se observó que los parámetros de las rectas no varían significativamente con el número de píxeles. El método escogido para el tratamiento de datos es, por lo tanto, el estudio de alturas con evaluación de un único píxel, ya que la linealidad y la precisión son mejores a las obtenidas con tres y cinco píxeles.